Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor:
Professor Dr. med. K. Botzenhart
Abteilung Mikrobiologie
Kommissarischer Direktor:
Professor Dr. med. K. Botzenhart

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON BAY K 4999 (FURAZLOCILLIN) UND CEFOTAXIM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. rer. nat. Ingo Bert Besenthal
aus Regensburg

1980

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor:
Professor Dr. med. K. Botzenhart
Abteilung Mikrobiologie
Kommissarischer Direktor:
Professor Dr. med. K. Botzenhart

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON BAY K 4999 (FURAZLOCILLIN) UND CEFOTAXIM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. rer. nat. Ingo Bert Besenthal
aus Regensburg

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. med. H. Haselmann
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. U. Ullmann
2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. R.-M. Schmülling

Herrn Professor Dr. med. U. Ullmann danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Beratung bei der Durchführung der Untersuchungen.

INHALT

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	
2.1.	Bakterienstämme	3
2.2.	Antibiotika	4
2.3.	Agardilutionstest	4
2.3.1.	pH-Abhängigkeit	5
2.4.	Lochplatten-Test	6
2.5.	Reihenverdünnungstest als Mikroverfahren	7
2.6.	ß-Laktamase-Nachweis	8
3.	Ergebnisse und Besprechung	
3.1.	Vergleichende Untersuchungen minimaler Hemmkonzentrationen	
3.1.1.	Escherichia coli	9
3.1.2.	Klebsielle spezies	16
3.1.3.	Proteus spezies	21
3.1.4.	Providencia spezies	26
3.1.5.	Serratia spezies	27
3.1.6.	Enterobacter spezies	30
3.1.7.	Citrobacter spezies	33
3.1.8.	Salmonella spezies	34
3.1.9.	Pseudomonas aeruginosa	35
3.2.	Einfluß der ß-Laktamase-Produktion auf die Antibiotika-Sensibilität der Bakterienarten	39
3.3.	pH-Abhängigkeit der antibakteriellen Aktivität von Bay k 4999	43
3.4.	Verhalten von Bay k 4999 in Lösungen	
3.4.1.	Stabilität in Infusionslösungen	45
3.4.2.	Antibakterielle Aktivität in Plasmawasser und Urin	47
3.5.	Kombination von Bay k 4999 mit Gentamicin	48
4.	Zusammenfassende Beurteilung	53
5.	Literatur	56

1. Einleitung

Die moderne Antibiotikatherapie hat zu großen Erfolgen bei der Bekämpfung bakterieller Erkrankungen geführt, aber dennoch ist heute keineswegs ein Stadium erreicht, in dem auf die Entwicklung neuer Wirkstoffe verzichtet werden könnte. Die gegenwärtig im Vordergrund stehenden therapeutischen Probleme sind als Folge eines Selektionsdrucks auf die Bakterienstämme zu verstehen. Begünstigt durch unkritische oder unzureichende Antibiotikagabe vermehren sich bevorzugt diejenigen Bakterien einer Population, die gegen die eingesetzten Präparate resistent sind; dies führt in der Klinik zu den bekannten Hospitalismus-Phänomen mit Vielfachresistenz und Erregerwandel (1-5). Unter den verschiedenen molekularen Ursachen der Resistenzerscheinungen nimmt die Zerstörung von ß-Laktam-Antibiotika durch ß-Laktamasen eine bedeutende Stellung ein (6). In den letzten Jahren sind hier neuartige Lösungsansätze erkannt worden, die auf der gezielten Hemmung solcher Enzyme beruhen (7-13). Gleichzeitig ist man aber auch weiterhin intensiv bemüht, Verbindungen mit erhöhter Wirksamkeit oder größerer ß-Laktamasestabilität zu entwickeln, um die Gefahr der Selektion resistenter Keime zu vermindern.

Die große Klasse der ß-Laktam-Antibiotika stellt eine wichtige Gruppe antibakteriell wirksamer Substanzen dar. Sie umfasst die in Struktur und Wirkungsmechanismus nahe verwandten Penicilline und Cephalosporine. Die Penicilline gehören wegen ihrer vergleichsweise guten Verträglichkeit zu den Mitteln der ersten Wahl. Ihre Anwendung wird jedoch dadurch eingeschränkt, daß die frühen Penicilline nur ein begrenztes Erregerspektrum erfassen, und die neueren Breitspektrum-Penicilline wegen ihrer geringen ß-Laktamasestabilität gewisse Wirksamkeitslücken aufweisen. Bei den Cephalosporinen bestehen einerseits Aktivitätslücken gegenüber klinisch wichtigen Bakterienarten (14,15), andererseits kann die therapeutische Anwendung durch die Möglichkeit dosisabhängiger Nierenschäden beeinträchtigt werden (16-20). Diese Einschränkungen gelten bis zu einem gewissen Grad auch für die Cephalosporine der sogenannten vierten Generation (21,22). Trotz der großen chemischen Ähnlichkeit

zwischen Penicillinen und Cephalosporinen betreffen die Aktivitätslücken beider Gruppen nicht die gleichen Bakterienarten, sondern ihre Wirsamkeitsspektren verhalten sich komplementär. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die antibakterielle Aktivität zweier neuer halbsynthetischer ß-Laktam-Antibiotika, Bay k 4999 und Cefotaxim, gegenüber gramnegativen Stäbchenbakterien mit der Aktivität von Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin zu vergleichen.

Bay k 4999, für das der Freiname Furazlocillin vorgeschlagen wurde, ist ein Ureido-Penicillin mit einem breiten Wirkungsspektrum. Die Struktur seines Natriumsalzes ist in Abb. 1 dargestellt. Cefotaxim (HR 756) ist ein Cephalosporin mit großer ß-Laktamasestabilität und guter Nierenverträglichkeit (23,24). Seine chemische Struktur ist in Abb. 2 dargestellt.

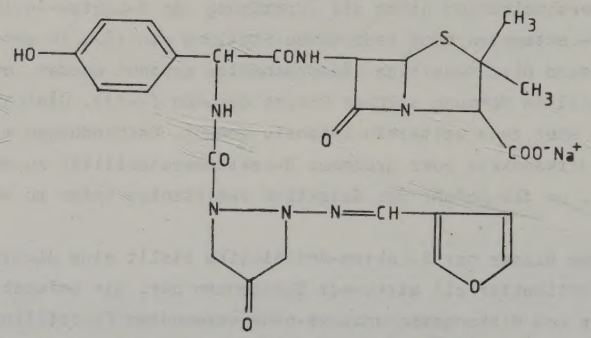

Abb. 1
Na-Salz von Bay k 4999 (Furazlocillin)

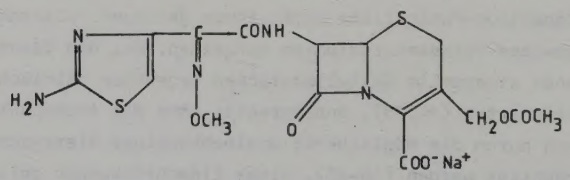

Abb. 2
Na-Salz von Cefotaxim

2.
Material und Methoden

2.1.
Bakterienstämme

Es wurden Enterobakteriaceae und Pseudomonas aeruginosa-Stämme untersucht, die frisch aus dem Urin von Patienten mit signifikanter Bakteriurie isoliert worden waren. Die Urinproben stammten größtenteils von Patienten, die in Tübinger Universitätskliniken hospitalisiert waren.
Die Bakterienstämme wurden auf C.L.E.D.-Medium (CM 301, Fa. Oxoid) gezüchtet und routinemäßig im Agardiffusionstest nach dem Plättchenverfahren (Mueller-Hinton-Agar CM 337, Fa. Oxoid) auf Empfindlichkeit geprüft. Der Empfindlichkeitstest umfasste bei den Enterobacteriaceae folgende Antibiotika: Gentamicin, Cephalotin, Doxycyclin, Cotrimoxazol, Amoxicillin, Polymyxin B, Carbenicillin, Nalidixinsäure und Nitrofurantoin; Bei Pseudomonas aeruginosa umfasste der Test: Gentamicin, Sisomicin, Tobramicin, Polymyxin B, Amikazin, Ticarcillin, Carbenicillin und Azlocillin. Enterobacteriaceenstämme, die in diesem Routine-Test gegen mehr als drei der angegebenen Hemmstoffe resistent waren, wurden als "multiresistent" bezeichnet und bei der Auswertung in gesonderten Kollektiven zusammengefasst. Bei Pseudomonas aeruginosa wurden Carbenicillin-empfindliche bzw. Carbenicillin-resistente Stämme zusammengefasst.
26 Stämme der Gattung Serratia stammten aus dem Labor Dr. Gärtner, Weingarten. Die untersuchten Salmonella-Stämme wurden überwiegend aus Stuhlproben isoliert; sie wurden der Vollständigkeit halber mitgeführt, da sie als pathogene Keime nach wie vor einige Bedeutung haben.
Die Differenzierung der Bakterienarten erfolgte durch konventionelle Verfahren und, wo dies nicht ausreichte, mit Hilfe des Enterotube-Systems (Fa. Hoffmann-La Roche AG). Folgende Stoffwechselleistungen wurden geprüft: Die Verwertung von Dextrose und Laktose, die Bildung von CO_2 aus Dextrose, der Abbau von Tryptophan zu Indol, die Fähigkeit, Schwefelwasserstoff zu bilden, die An-

wesenheit von Phenylalanin-Desaminase, die Harnstoffspaltung, die Anwesenheit von Ornithin- und Lysin-Dekarboxylase, die Verwertung von Citrat, die Fähigkeit, Dulcit abzubauen sowie gegebenenfalls die Anwesenheit von Cytochromoxidase.
Die identifizierten Bakterienstämme wurden auf Mueller-Hinton-Schrägagar überimpft, für 24 Stdn. bei 37 °C bebrütet und bis zur Verwendung bei Zimmertemperatur aufbewahrt.
Die Referenzstämme E. coli ATCC 25 922 und Pseudomonas aeruginosa ATCC 9721 wurden bei den Untersuchungen als Wirksamkeitskontrollen mitgeführt.

2.2.
Antibiotika

Für die Untersuchungen wurden folgende Antibiotika verwendet: Bay k 4999 für Testzwecke, Aktivität 883.7 /ug/mg, Pt. 455 156 und Pt. 540 004, Azlocillin, Aktivität 954 /ug/mg, Charge No. 4172 B (beide Fa. Bayer AG, Leverkusen); Cefotaxim (HR 756), Aktivität 925 /ug/mg, batch nb. 57, Cefuroxim, Aktivität 911 /ug/mg, Charge No. CT 1770/J (beide Fa. Hoechst AG, Frankfurt); Ticarcillin, Aktivität 906 /ug/mg, batch nb. CT 123/1608 (Fa. Wülfing, Neuß); Cefoxitin, Aktivität 930 /ug/mg, lot nb. C-E 925 (Fa. Sharp & Dohme, München); Gentamicin, Aktivität 639 /ug/mg, Charge No. 5 863 352 (Fa. Merck AG, Darmstadt).

2.3.
Agardilutionstest

Die auf Schrägagar gesammelten Bakterienstämme wurden am Tag vor der Verwendung auf Blutplatten (Columbia-Agar CM 331, Fa. Oxoid, mit 5% defibriniertem Schafsblut) überimpft und über Nacht bei 37 °C bebrütet. Unmittelbar vor dem Versuch wurde jeweils eine Kolonie eines Stammes in 10 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Aus diesen Suspensionen wurden die Testplatten mit Hilfe eines automatischen Inokulators (Autotiter AM 80,

Fa. DYNATECH) beimpft, wodurch auf jeder Platte gleichzeitig 20 Bakterienstämme untersucht werden konnten.
Als Testmedium wurde Mueller-Hinton-Agar verwendet. Die geometrischen Verdünnungsreihen der entsprechend ihrer Aktivität gelösten Antibiotika hatten für Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin die Konzentrationen 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 und 128 mg/l. Bei Bay k 4999 wurden zusätzlich noch die Konzentrationen 0.125 und 0.25 mg/l untersucht. Für Cefotaxim bestand die Verdünnungsreihe aus den Konzentrationen 0.03, 0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 und 32 mg/l. Als Vermehrungskontrolle diente jeweils Mueller-Hinton-Agar ohne Antibiotikazusatz. Die beimpften Antibiotika-Nährböden wurden 20 Stdn. bei 37 °C bebrütet und dann die minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) gegenüber den einzelnen Bakterienstämmen festgestellt.
Die klinische Relevanz der Hemmkonzentrationen hängt von der Bewertungsgrenze des jeweiligen Antibiotikums ab. Ist die minimale Hemmkonzentration kleiner als die durch die Bewertungsgrenze angegebene Konzentration, so ist der Bakterienstamm als empfindlich anzusehen, ist sie größer, wird der Stamm als resistent beurteilt. Nach Angaben der Hersteller gelten die Mikroorganismen ab folgenden Antibiotika-Konzentrationen als resistent: Azlocillin 64 mg/l, Ticarcillin 128 mg/l, Cefuroxim 16 mg/l und Cefoxitin 16 mg/l. In den vorliegenden Untersuchungen wurde für Bay k 4999 die Konzentration 64 mg/l und für Cefotaxim 16 mg/l als Bewertungsgrenze angenommen.

2.3.1.
pH-Abhängigkeit

Die pH-Abhängigkeit der antibakteriellen Aktivität von Bay k 4999 wurde im Agardilutionsverfahren geprüft. Dazu wurden Verdünnungsreihen mit den Konzentrationen 0.25, 0.5, 1, 2, 4 und 8 mg/l bei den pH-Werten 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 und 8.0 untersucht. Testmedium war Mueller-Hinton-Agar, die Beimpfung wurde mit dem automatischen Inokulator durchgeführt.

2.4.
Lochplatten-Test

Die Prüfung der antibakteriellen Aktivität von Bay k 4999 in Plasmawasser und Urin, sowie die Untersuchung der Stabilität der Verbindung in 5 %iger Glucose-Infusionslösung und in physiologischer NaCl wurden im Agardiffusionstest nach dem Lochplatten-Verfahren durchgeführt (25).
Die verwendeten Sporenplatten wurden mit 20 ml D.S.T.-Agar (CM 261, Fa. Oxoid) in Petrischalen hergestellt. Als Testkeim wurde Bacillus subtilis ATCC 6633 eingesetzt, die Sporendichte betrug 7.5×10^3 pro ml. Mit Hilfe eines Korkbohrers wurde auf jeder der im Kühlschrank vorgekühlten Sporenplatten vier Vertiefungen mit einem Durchmesser von 7 mm ausgestanzt.
Bei dem Plasmawasser handelte es sich um eine Konserve aus der Blutbank der Universität Tübingen. Als Urinproben wurden sterile Patienten-Urine verwendet. Die Bay k-Konzentration in diesen beiden Körperflüssigkeiten betrug 128 mg/l. Als Vergleichslösung diente Wasser für Injektionszwecke (aqua pro injectione, Fa. Hoechst) mit der gleichen Bay k-Konzentration. Zum Vergleich der antibakteriellen Aktivität wurden auf den Sporenplatten gleichzeitig je 50 µl der jeweiligen Probe mit Bay k und, zum Ausschluß einer eventuellen Eigenaktivität, 50 µl ohne Bay k untersucht; ferner wurden in eine weitere Vertiefung jeder Platte 50 µl der Vergleichslösung pipettiert. Die beschickten Platten wurden zur Vordiffusion für 4 Stdn. in einen Kühlschrank gestellt, anschliessend 20 Stdn. bei 37 °C bebrütet und zur Auswertung wurden die Hemmhofdurchmesser in mm als Mittelwert zweier Messungen ermittelt.
In der Glucose-Infusionslösung (G-5, Fa. Braun, Melsungen) und der physiologischen Kochsalzlösung betrug die Bay k-Konzentration 10 g/l, entsprechend einer möglichen therapeutischen Dosierung. Die Lösungen wurden während der Versuchsdauer bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Als Vergleichslösung diente aqua pro injectione mit der gleichen Bay k-Konzentration, sie wurde bei 0 °C aufbewahrt (Eisbad). Die Probenvolumina betrugen auch hier 50 µl und auch hier wurde zum Ausschluß einer antibakteriellen Eigenakti-

vität wurde auch hier auf jeder Platte eine Probe der Infusionslösung ohne Antibiotikumzusatz mitgeführt. Die Proben wurden zu Folgenden Zeiten entnommen: Unmittelbar nach Lösung des Antibiotikums, nach 1/2, 1 1/2, 3, 6, 10 und 24 Stunden. Die Vordiffusionszeit im Kühlschrank betrug wieder 4 Stdn., die Bebrütungsdauer 20 Stdn. Die Auswertung erfolgte wie oben.

2.5.
Reihenverdünnungstest als Mikroverfahren

Die Untersuchung darüber, ob mit der Kombination von Bay k und Gentamicin eine größere antibakterielle Wirkung erzielt werden kann als mit den Einzelsubstanzen, wurde im Reihenverdünnungstest als Mikromethode durchgeführt. Von jedem Antibiotikum wurde eine Verdünnungsreihe mit den vierfachen Endkonzentrationen hergestellt und je 25 µl jeder Verdünnungsstufe des einen Antibiotikums mit je 25 µl jeder Verdünnungsstufe des anderen Antibiotikums in je einer Vertiefung einer Mikrotest-Platte (96 U, Fa. Nunc) zusammenpipettiert, so daß auf der Mikrotest-Platte jede mögliche Kombination der Antibiotika-Konzentrationen als 50 µl-Mischung vorlag. Zum Vergleich mit der Aktivität der Einzelsubstanzen wurde auf der Mikrotest-Platte von beiden Antibiotika eine Verdünnugsreihe unvermischt gelassen und zum Volumenausgleich mit sterilem aqua dest. auf 50 µl pro Verdünnungsstufe aufgefüllt. Eine solche Mikrotest-Platte wurde für jeden zu testenden Bakterienstamm vorbereitet, mit Klebefolie abgedeckt und bis zur ihrer Verwendung bei -78 °C eingefroren.
Die zu testenden Bakterienstämme wurden folgendermaßen vorbereitet: Jeder der Stämme wurde von dem Schrägagar in 8 ml Soja-Trypton-Bouillon (CM 129, Fa. Oxoid mit 100 mg/l Aminobenzoesäure) überimpft und über Nacht bei 37 °C bebrütet. Aus der Soja-Kultur wurden 10 µl in 50 ml Mueller-Hinton-Bouillon (CM 405, Fa. Oxoid) pipettiert und von dieser Suspension sofort je 50 µl zu den vorgelegten Antibiotika-Lösungen einer aufgetauten Mikrotest-Platte zugegeben. Die Bakterieneinsaat betrug damit ca. 10^3 - 10^4 Keime

pro 100 µl Testgemisch. Ferner entsprachen die Endverdünnungen der Antibiotika in den Testgemischen nun folgenden Verdünnungsstufen: 2, 4, 8, 16, 32, 64 und 128 mg/l für Bay k 4999, sowie 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 und 8 mg/l für Gentamicin und alle daraus resultierenden Kombinationsmöglichkeiten.
Die beimpften Mikrotest-Platten wurden mit Klebefolie abgedeckt und nach 18stündiger Bebrütung bei 37 °C die minimalen Hemmkonzentrationen abgelesen.

2.6.
ß-Laktamase-Nachweis

Der Nachweis der ß-Laktamase-Produktion bei den untersuchten Bakterienstämmen wurde mit Hilfe des chromogenen Cephalosporins Nitrocefin (compound 87/312 Fa. Glaxo Research) geführt. Nitrocefin weist bei seiner Hydrolyse durch ß-Laktamasen einen deutlichen Farbumschlag nach rot auf (26). Mit einer Pasteur-Pipette wurde auf jede Bakterienkolonie der antibiotika-freien Wachstums-Kontrollplatten (s. 2.3.) ein Tropfen einer wässrigen Nitrocefinlösung (500 mg/10 ml) aufgetragen und die Farbreaktion nach 10 - min abgelesen.

3.

Ergebnisse und Bewertung

3.1.

Vergleichende Untersuchungen minimaler Hemmkonzentrationen

3.1.1.

Escherichia coli

Die Empfindlichkeit von 595 E. coli-Stämmen wurde im Agardilutionstest untersucht. Davon waren 60 Stämme "multiresistent", die gesondert besprochen werden.
In Tabelle 1 ist die relative Wirksamkeit der zu vergleichenden Antibiotika gegenüber 535 nicht vielfachresistenten E. coli-Stämmen dargestellt. Während an den Bewertungsgrenzen in allen Fällen weit über 90 % der Stämme gehemmt wurden, waren bei den niedrigeren Konzentrationen beträchtliche Aktivitätsunterschiede festzustellen. Die mit großem Abstand wirksamste Substanz war

	Konz. (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			39	60	85	92	93	94	95	96	97	98	99	100
Azlocillin					1	2	18	60	88	93	93	94	94	100
Ticarcillin					2	17	59	87	92	94	94	94	94	100
Cefuroxim					1	4	31	81	98	99	100			
Cefoxitin					1	3	41	86	98	99	100			
Cefotaxim	70	92	98	99	99	99	99	100						

Tab.1

Summe der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten E. coli-Stämme (n = 535) in Prozent. Die durchgezogene Linie bezeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

zweifellos Cefotaxim, das schon bei einer Konzentration von 0.03 mg/l 70 % und bei 0.25 mg/l 99 % der Stämme hemmte. Gegenüber 217 (41 %) dieser E. coli-Stämme wurde noch zusätzlich die hier nicht aufgeführte Cefotaxim-Konzentration von 0.015 mg/l untersucht, und es zeigte sich, daß 190 (88 %) dieser Stämme schon bei dieser Konzentration gehemmt waren. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurden vier Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistente Stämme, zwei davon mit Parallelresistenz, durch Cefotaxim-Konzentrationen von maximal 4 mg/l gehemmt.

Bay k 4999 war nach Cefotaxim das wirksamste Antibiotikum (Tab. 1). Bei einer Bay k-Konzentration von 0.5 mg/l waren schon 85 % der Stämme gehemmt, während durch die beiden anderen Penicilline und Cephalosporine bei dieser Konzentration erst 1 - 2 % gehemmt wurden. In dem Konzentrationsbereich von 0.5 - 2 mg/l schien Ticarcillin dem Azlocillin überlegen zu sein, bei 2 mg/l waren durch Ticarcillin 59 % der Stämme gehemmt, gegenüber 18 % bei Azlocillin. Die antibakteriellen Aktivitäten von Cefuroxim und Cefoxitin unterschieden sich nicht wesentlich voneinander und entsprachen mit einer Resistenzhäufigkeit von etwa 1 % der Aktivität von Bay k, während die Resistenzhäufigkeit der beiden anderen Penicilline mit etwa 6 % deutlich höher lag.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Cefotaxim	-	-	2	1	-	-	-	1	-	-	-			
Cefuroxim					-	-	-	-	-	1	3	-	-	
Cefoxitin					-	-	-	-	-	1	2	1	-	

Tab. 2

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration gehemmten Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistenten E. coli-Stämme (n = 4)

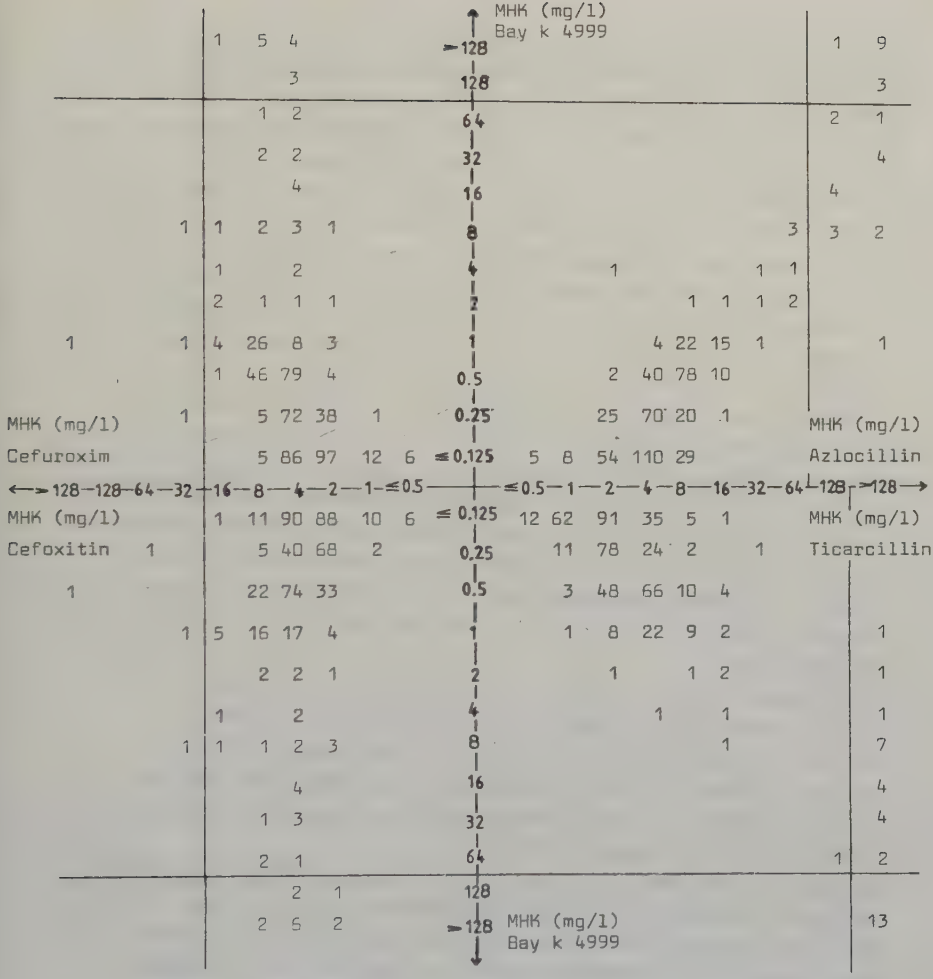

Abb. 3

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999, Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin gegenüber 535 E. coli-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

Die Wirksamkeit der verschiedenen Antibiotika gegenüber den einzelnen Bakterienstämmen wurde für jeden Stamm simultan untersucht, daher können die MHK-Werte direkt verglichen werden, soweit die Bewertungsgrenzen übereinstimmen. In Abb. 3 sind die MHK-Werte von Bay k 4999 denen von Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim bzw. Cefoxitin gegenübergestellt. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika. Alle Stämme, die innerhalb der durch die Linien und das Koordinatenkreuz gebildeten Felder liegen, sind gegenüber den betreffenden Antibiotika als empfindlich anzusehen, alle ausserhalb liegenden Stämme als resistent.
Azlocillin- bzw. Ticarcillin-Resistenz trat etwa doppelt so häufig auf wie Bay k-Resistenz. Von den 27 Azlocillin- und 33 Ticarcillin-resistenten Stämmen erwiesen sich 17 bzw. 21 als sensibel gegenüber Bay k. Andererseits waren Azlocillin und Ticarcillin gegen keinen der 13 Bay k-resistenten Stämme ausreichend wirksam. Da für Bay k und Azlocillin identische Bewertungsgrenzen angenommen wurden, können ihre Hemmkonzentrationen direkt verglichen werden. Mit einer Ausnahme liegen für alle Stämme die MHK-Werte von Azlocillin höher als von Bay k.
Die Resistenzhäufigkeit gegenüber Cefuroxim und Cefoxitin war mit jeweils 4 resistenten Stämmen deutlich geringer als gegenüber Bay k. Diese 8 Cephalosporin-resistenten Stämme wurden alle durch klinisch relevante Bay k-Konzentrationen gehemmt. Andererseits war sowohl Cefuroxim als auch Cefoxitin gegenüber allen 13 Bay k-resistenten Stämmen ausreichend wirksam.
Die Ergebnisse für das Kollektiv der 60 "multiresistenten" E. coli-Stämme sind summarisch in Tabelle 3 zusammengefasst. Auch hier erwies sich Cefotaxim als die wirksamste Substanz, alle "multiresistenten" Stämme wurden durch Konzentrationen von weniger als 4 mg/l gehemmt. Die MHK-Werte von Cefotaxim gegenüber 16 Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistenten Stämmen sind in Tabelle 4 dargestellt. 6 der Stämme waren parallelresistent gegenüber Cefuroxim und Cefoxitin.
Unter insgesamt 595 untersuchten E. coli-Stämmen wurde also keine Resistenz gegenüber Cefotaxim beobachtet.
Von den drei Penicillinen zeigte wiederum Bay k die größte Wirk-

	Konz. (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			10	13	15	15	20	33	45	52	55	62	65	100
Azlocillin					-	-	-	2	5	10	15	37	53	100
Ticarcillin					-	2	3	3	3	15	22	25	25	100
Cefuroxim					-	-	10	32	57	77	95	97	100	
Cefoxitin					-	3	29	57	67	87	97	98	100	
Cefotaxim	57	68	73	78	95	97	100	-	-	-	-			

Tab. 3

Summe der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten "multiresisten" E. coli-Stämme (n = 60) in Prozent. Die durchgezogene Linie bezeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Cefotaxim	2	-	-	1	10	1	2	-	-	-	-			
Cefuroxim										2	11	1	2	
Cefoxitin							1	1	-	6	6	1	1	

Tab. 4

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistenten Stämme des "multiresistenten" E. coli-Kollektivs (n = 16).

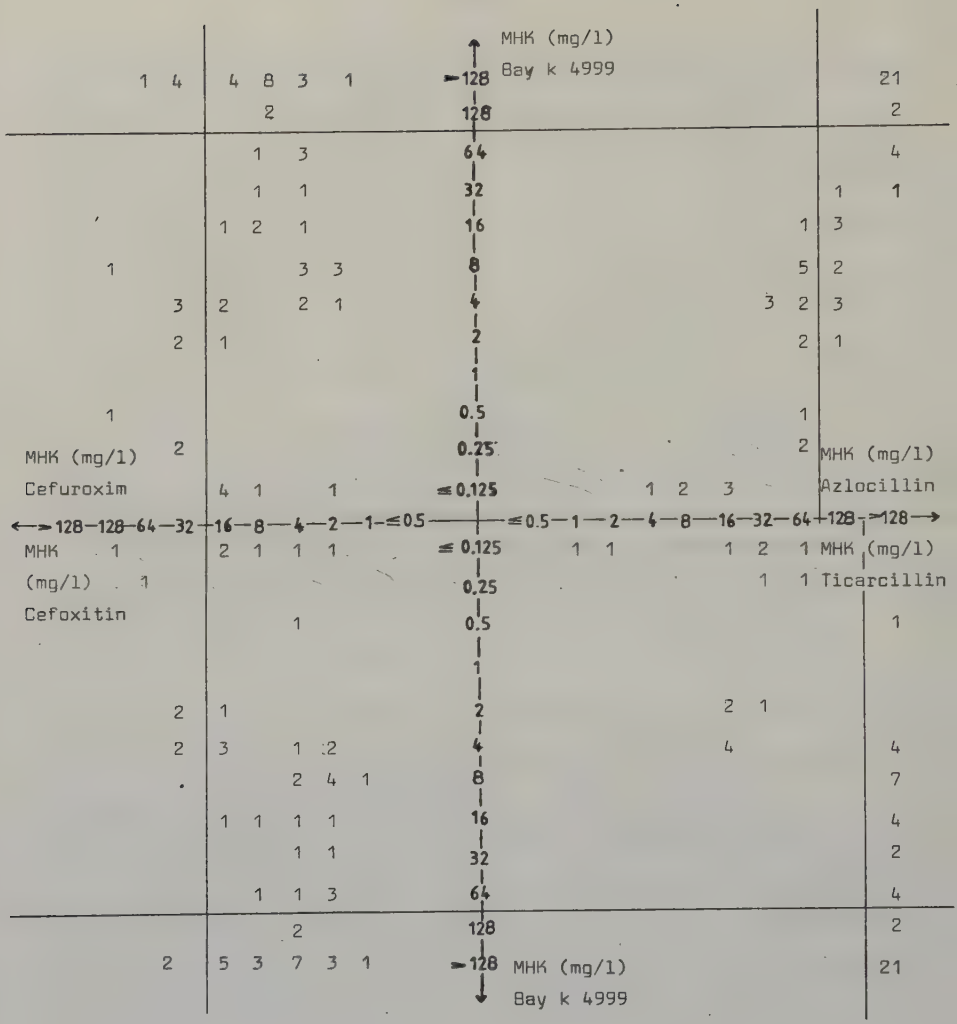

Abb. 4

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k, Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin gegenüber 60 "multiresistenten" E. coli-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

samkeit, es hemmte an seiner Bewertungsgrenze 62 % der Stämme. Durch Azlocillin wurden bei der entsprechenden Konzentration nur 37 % der Stämme gehemmt, und Ticarcillin erwies sich sogar nur gegenüber 25 % der Stämme als ausreichend wirksam.
Die antibakterielle Aktivität von Cefuroxim und Cefoxitin war relativ größer als die von Bay k, denn durch die beiden Cephalosporine wurden 77 % bzw. 87 % der "multiresistenten" Stämme im klinisch relevanten Konzentrationsbereich gehemmt.
Einen Vergleich der MHK-Werte von Bay k mit denen der übrigen Substanzen ermöglicht Abbildung 4. Interessant ist dabei vor allem die Frage der Wirksamkeit von Bay k gegenüber denjenigen Bakterienstämmen, die durch die anderen untersuchten Antibiotika nicht ausreichend gehemmt wurden. Von 38 Azlocillin-resistenten Stämmen sind noch 15 als Bay k-empfindlich anzusehen, das gleiche gilt für 22 von 45 Ticarcillin-resistenten Stämmen. Andererseits zeigten sich Azlocillin und Ticarcillin gegenüber keinem der Bay k-resistenten Stämme ausreichend wirksam. Damit bestand bei mehr als der Hälfte der "multiresistenten" E. coli-Stämme eine komplette Parallelresistenz gegen alle drei untersuchten Penicilline.
Demgegenüber wurde eine Parallelresistenz zwischen Bay k und den beiden Cephalosporinen Cefuroxim und Cefoxitin wesentlich seltener beobachtet. Von den 23 Bay k-resistenten Stämmen wurden 18 durch klinisch relevante Cefuroxim-Konzentrationen erfasst, und andererseits wurden von 14 Cefuroxim-resistenten Stämmen 9 durch Bay k ausreichend gehemmt. Cefoxitin war gegen 21 der 23 Bay k-resistenten Stämme ausreichend wirksam, und umgekehrt waren von 8 Cefoxitin-resistenten Stämmen 6 gegenüber Bay k als empfindlich anzusehen.
Zwei dieser 60 "multiresistenten" Stämme zeigten komplette Kreuzresistez zwischen den Penicillinen und Cefuroxim/Cefoxitin; beide Stämme waren aber gegenüber Cefotaxim noch ausreichend empfindlich.

3.1.2.
Klebsiella spezies

Insgesamt 111 Klebsiella sp.-Stämme wurden in zwei Kollektiven untersucht. Das erste Kollektiv umfasste 47 Stämme, das zweite Kollektiv 64, die als "multiresistent" eingestuft worden waren.
16 der 47 Stämme des ersten Kollektivs, d.h. etwa 34 %, waren durch Bay k schon bei einer Konzentration von 0.125 mg/l gehemmt, wie aus der Tabelle 5 zu entnehmen ist. Die Wirkung von Azlocillin dagegen beginnt erst bei einer Konzentration von 8 mg/l, und die Wirkung von Ticarcillin sogar erst bei einer Konzentration von 32 mg/l . Durch Bay k waren bei diesen Konzentrationen bereits ca. 85 % bzw. 91 % der Stämme gehemmt. Während aber der Aktivitätsunterschied zwischen Bay k und Azlocillin an ihrer Bewertungsgrenze nahezu ausgeglichen ist, erwies sich die relative Wirksamkeit von Ticarcillin als wesentlich geringer. Etwa 64 % der Stäm-

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			16	9	1	4	3	2	5	3	-	-	2	2
Azlocillin					-	-	-	-	5	26	5	4	3	4
Ticarcillin					-	-	-	-	-	-	4	6	7	30
Cefuroxim					1	-	16	24	5	-	-	1	-	-
Cefoxitin					1	5	29	11	-	-	1	-	-	-
Cefotaxim	44	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 5

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Klebsiella sp.-Stämme (n = 47). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

me wurden auch durch Ticarcillin-Konzentrationen von 128 mg/l nicht gehemmt.

Die antibakterielle Aktivität von Cefuroxim und Cefoxitin war relativ größer als die von Bay k, denn es wurde nur ein resistenter Stamm beobachtet. Dieser gegenüber beiden Cephalosporinen parallelresistente Stamm, dessen MHK-Wert für Cefuroxim bei 64 mg/l und für Cefoxitin bei 32 mg/l lag, wurde durch Cefotaxim schon bei einer Konzentration von 0.25 mg/l gehemmt. Die übrigen 46 Stämme wurden alle durch Cefotaxim-Konzentrationen von weniger als 0.125 mg/l gehemmt.

Wie aus der Tabelle 6 hervorgeht, zeigte Cefotaxim auch gegenüber den 64 "multiresistenten" Klebsiella-Stämmen eine außerordentliche Wirksamkeit. Die MHK-Werte lagen für etwa 81 % der Stämme unter 0.06 mg/l, und bei einer Cefotaxim-Konzentration von 1 mg/l waren alle Stämme gehemmt. Die minimalen Hemmkonzentrationen von Cefotaxim gegenüber 10 Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistenten Stämmen, von denen 5 Parallelresistenz gegen beide Cephalosporine aufwiesen, sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Im Vergleich mit Bay k war die relative Wirksamkeit von Cefuroxim und Cefoxitin, mit einer Resistenzhäufigkeit von je 13 % gegenüber 38 % bei Bay k, deutlich größer.

Bay k seinerseits, das bei seiner Bewertungsgrenze 42 % der Stämme hemmte, zeigte sich den beiden anderen Penicillinen überlegen, von denen Azlocillin bei der entsprechenden Konzentration nur etwa 35 % der Stämme hemmte, während Ticarcillin auch bei einer Konzentration von 128 mg/l völlig unwirksam war. Die begrenzte Wirksamkeit von Azlocillin und die fast fehlende Wirksamkeit von Ticarcillin gegenüber Klebsiella spezies entspricht durchaus der Erwartung (2, 27-31).

Aus Abbildung 5 kann entnommen werden, daß gegenüber allen Stämmen die Hemmkonzentrationen von Bay k kleiner waren als von Azlocillin. Ferner wurden durch Bay k noch 18 der 42 Azlocillin-resistenten Stämme im therapeutischen Konzentrationsbereich erfasst, während alle Bay k-resistenten Stämme auch gegen Azlocillin resistent waren.

Demgegenüber konnten von den je 8 Cefuroxim- und Cefoxitin-resistenten Stämmen nur einer bzw. zwei als Bay k-empfindlich an-

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			5	4	2	-	4	3	6	2	9	5	4	20
Azlocillin					-	-	-	-	2	5	9	6	4	38
Ticarcillin					-	-	-	-	-	-	-	-	-	64
Cefuroxim					-	-	5	20	21	10	6	1	1	-
Cefoxitin					2	-	18	17	12	7	2	3	1	2
Cefotaxim	52	6	2	3	-	1	-	-	-	-	-			

Tab. 6

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten "multiresistenten" Klebsiella sp.-Stämme (n = 64). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Cefotaxim	2	2	2	3	-	1	-	-	-	-	-			
Cefuroxim									1	1	6	1	1	-
Cefoxitin										2	2	3	1	2

Tab. 7

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Cefuroxim- bzw. Cefoxitin-resistenten Stämme des "multiresistenten Klebsiella sp.-Kollektivs (n = 10).

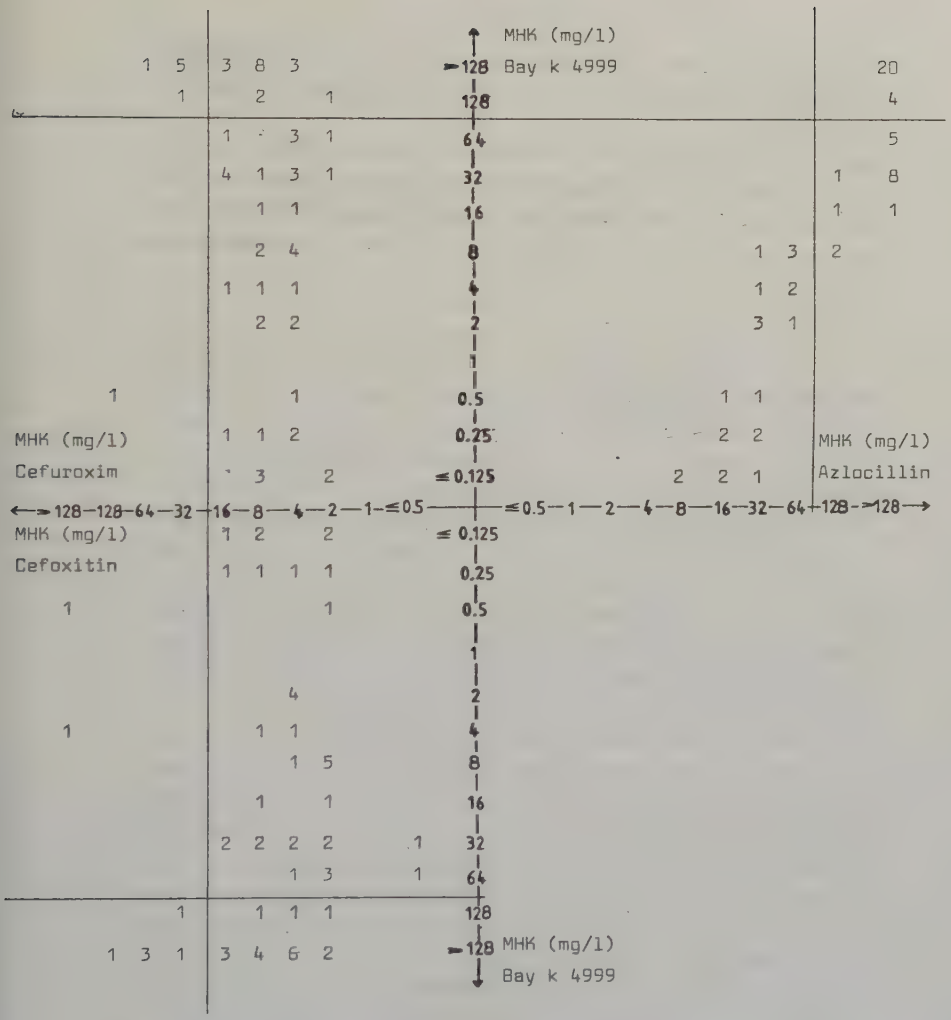

Abb. 5

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999, Azlocillin, Cefuroxim und Cefoxitin gegenüber 64 "multiresistenten" Klebsiella sp.-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

gesehen werden, während andererseits von den 24 Bay k-resistenten Stämmen 17 durch Cefuroxim und 18 durch Cefoxitin erfasst wurden.

Komplette Kreuzresistenz zwischen Bay k, und damit allen untersuchten Penicillinen, Cefuroxim und Cefoxitin trat bei 5 der 64 "multiresistenten" Stämme auf. Alle diese Stämme waren gegen therapeutisch relevante Konzentrationen von Cefotaxim empfindlich.

3.1.3.
Proteus spezies

In einem ersten Kollektiv wurden 70 indol-negative bzw. 7 indol-positive Stämme der Gattung Proteus zusammengefasst. Die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfungen sind in den Tabellen 8 und 9 dargestellt.
Von den indol-negativen Stämmen (Tab. 8) waren ca. 80 % bereits bei einer Bay k-Konzentration von 0.5 mg/l gehemmt. Bay k erwies sich damit als etwas wirksamer als Ticarcillin, durch das bei der gleichen Konzentration 47 (67 %) der Stämme gehemmt waren. Azlocillin zeigte von den Penicillinen die geringste Wirksamkeit, es hemmte eine vergleichbare Anzahl von Stämmen erst bei einer vier- bis achtfachen Konzentration. Ferner wurde, im Gegensatz zu Bay k und Ticarcillin, bei zwei Stämmen Azlocillin-Resistenz beobachtet. Die relative Wirksamkeit von Cefuroxim und Cefoxitin entsprach der von Bay k und Ticarcillin, wobei die Hemmkonzentrationen von Cefuroxim etwas niedriger lagen als von Cefoxitin. Cefotaxim hemmte alle Stämme in Konzentrationen von weniger als 0.125 mg/l.
Die in Tabelle 9 dargestellten Ergebnisse der indol-positiven Proteus-Stämme gleichen weitgehend denen der indol-negativen. Auch hier fällt die Wirksamkeit der Penicilline in der Reihenfolge Bay k, Ticarcillin, Azlocillin, wobei jedoch keine Azlocillin-Resistenz festgestellt wurde. Dagegen traten zwei Cefuroxim-resistente Stämme auf. Durch Cefotaxim waren alle Stämme, von einer Ausnahme abgesehen, bei einer Konzentration von 0.03 mg/l gehemmt. Der eine Stamm mit einem für Cefotaxim relativ hohen MHK-Wert von 0.5 mg/l zeigte nur eine Resistenz gegenüber Cefuroxim, während alle anderen Substanzen ausreichend wirksam waren.
In einem zweiten Kollektiv wurden jeweils die "multiresistenten" Proteus-Stämme zusammengefasst, von denen 22 indol-negativ und 19 indol-positiv reagierten. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 10 bzw. 11 dargestellt.
Abgesehen von einer Zunahme der Anzahl resistenter Stämme, die vor allem bei den Penicillinen festzustellen war, wurden bei den

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			21	6	29	11	1	-	-	-	1	1	-	-
Azlocillin					2	6	29	27	3	1	-	-	1	1
Ticarcillin					47	18	1	1	-	1	-	1	1	-
Cefuroxim					2	23	35	7	3	-	-	-	-	-
Cefoxitin					-	2	28	36	4	-	-	-	-	-
Cefotaxim	66	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 8

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten indol-negativen Proteus sp.-Stämme (n = 70) des ersten Kollektivs. Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			2	1	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-
Azlocillin					-	1	2	2	1	-	-	1	-	-
Ticarcillin					4	1	1	-	1	-	-	-	-	-
Cefuroxim					1	3	-	-	1	-	1	1	-	-
Cefoxitin					1	-	2	2	2	-	-	-	-	-
Cefotaxim	6	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-			

Tab. 9

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten indol-positiven Proteus sp.-Stämme des ersten Kollektivs (n = 7).

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			6	4	1	-	-	-	2	-	-	-	-	9
Azlocillin					1	2	3	3	2	-	1	-	1	9
Ticarcillin					7	4	-	-	-	-	-	-	1	10
Cefuroxim					1	2	8	4	4	2	1	-	-	-
Cefoxitin					-	-	10	5	4	3	-	-	-	-
Cefotaxim	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 10

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten "multiresistenten" indol-negativen Proteus sp.-Stämme (n = 22). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			7	-	1	4	2	-	-	1	-	1	-	3
Azlocillin					-	1	3	6	3	-	1	-	2	3
Ticarcillin					4	3	4	2	-	-	-	-	-	6
Cefuroxim					-	-	6	1	3	3	-	2	-	4
Cefoxitin					-	1	9	6	-	3	-	-	-	-
Cefotaxim	18	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 11

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten "multiresistenten" indol-positiven Proteus sp.-Stämme (n = 19).

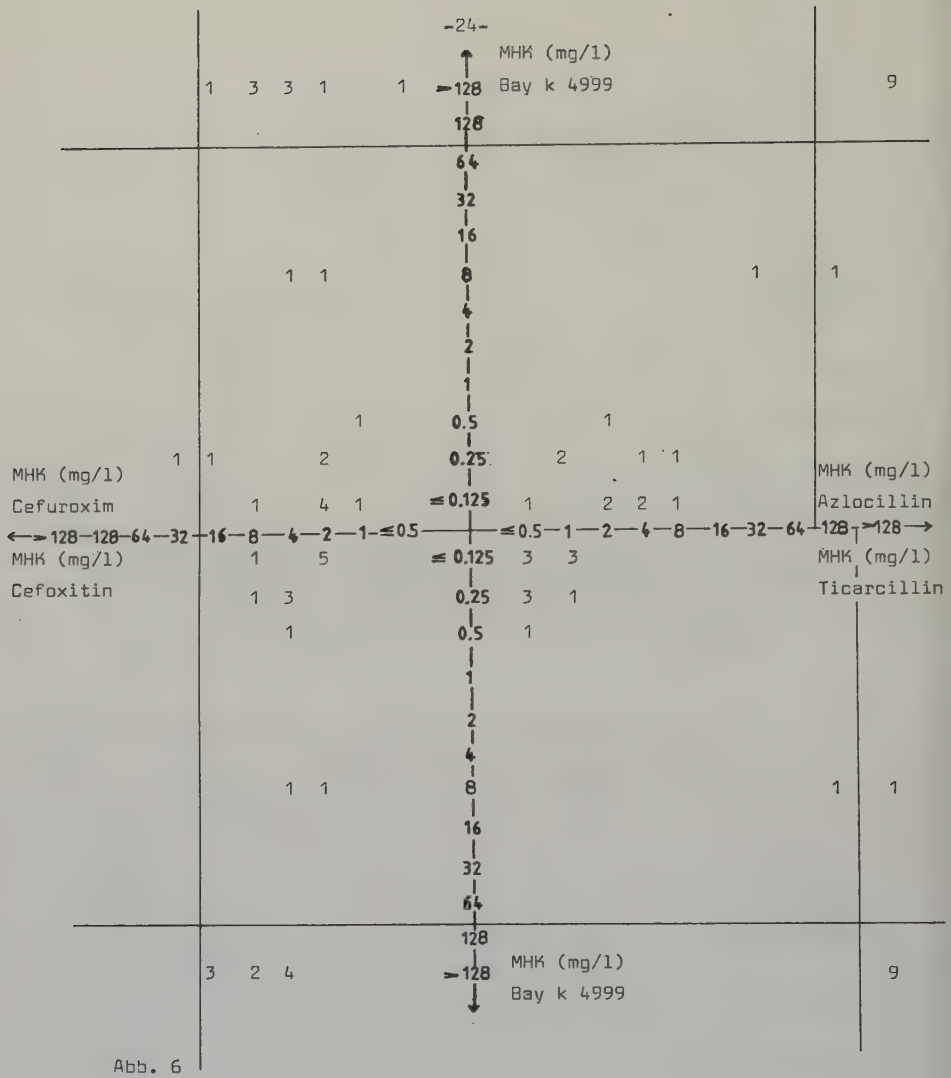

Abb. 6

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999, Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin gegenüber 22 "multiresistenten" indol-negativen Proteus-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämmen. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

"multiresistenten" Stämmen gegenüber dem ersten Kollektiv keine bedeutenden Unterschiede in der Empfindlichkeitsverteilung beobachtet. Bay k war auch hier das wirksamste der drei Penicilline, und zwar sowohl bezüglich der Resistenzhäufigkeit, als auch hinsichtlich der Größe der Hemmkonzentrationen. Im Gegensatz zu dem ersten Kollektiv schien gegenüber den indol-negativen Stämmen des zweiten Kollektivs Cefoxitin etwa gleich wirksam zu sein wie Cefuroxim. Cefotaxim hemmte alle "multiresistenten" Proteus-Stämme, indol-negative wie indol-positive, durch Konzentrationen von weniger als 0.125 mg/l.

In Abbildung 6 sind die sich entsprechenden MHK-Werte der "multiresistenten" Proteus mirabilis-Stämme für Bay k und die anderen Antibiotika einander gegenüber gestellt. Während die Hemmkonzentrationen von Azlocillin in allen Fällen höher lagen als die von Bay k, zeigte sich Ticarcillin gegenüber 7 Stämmen etwa so wirksam wie Bay k. Ferner ist zu erkennen, daß Bay k nur gegenüber einem von 10 Azlocillin-resistenten bzw. 2 von 11 Ticarcillin-resistenten Stämmen eine wirksame Alternative darstellte. Bei 9 Stämmen lag eine komplette Parallelresistenz gegenüber den drei Penicillinen vor. Demgegenüber wurde keine Kreuzresistenz zwischen Bay k und den Cephalosporinen beobachtet.

3.1.4.
Providencia spezies

Von den 8 hier untersuchten Providencia sp.-Stämmen waren 5 als "multiresistent" eingestuft, wobei aber wegen der geringen Anzahl auf eine getrennte Darstellung verzichtet wurde.
Wie aus der Tabelle 12 hervorgeht, lagen die MHK-Werte von Ticarcillin für 3 Stämme unter denen von Bay k, während die Anzahl resistenter Stämme für beide Substanzen etwa gleich groß war. Azlocillin zeigte von den Penicillinen die schlechteste Wirksamkeit. Durch Cefuroxim und Cefoxitin wurden alle Stämme im therapeutisch relevanten Konzentrationsbereich gehemmt. Cefotaxim, die wirksamste der untersuchten Substanzen, hemmte alle Stämme in Konzentrationen von maximal 0.125 mg/l.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			-	-	-	-	2	1	-	-	-	1	-	4
Azlocillin					-	-	-	-	-	-	1	1	1	5
Ticarcillin					-	3	-	-	-	-	-	-	-	5
Cefuroxim					-	-	-	2	6	-	-	-	-	-
Cefoxitin					-	-	2	3	3	-	-	-	-	-
Cefotaxim	3	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 12

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Providencia sp.-Stämme (n = 8). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

3.1.5.
Serratia spezies

Aus Tabelle 13 ist zu entnehmen, daß gegenüber 31 Serratia sp.-Stämmen von den Penicillinen Bay k die größte antibakterielle Aktivität aufwies. Etwa 30 % der Stämme waren bei einer Bay k-Konzentration von 0.5 mg/l gehemmt. Verglichen mit Azlocillin und Ticarcillin war die Resistenzhäufigkeit gegenüber Bay k nur halb so groß. Durch Azlocillin und Ticarcillin wurden nur etwa je 30 % der Stämme in therapeutisch relevanten Konzentrationen gehemmt. Cefuroxim war hier nicht wirksamer als Azlocillin und erwies sich damit dem Bay k unterlegen. Demgegenüber wurde Bay k in seiner relativen Wirksamkeit deutlich durch Cefoxitin übertroffen, nur 4 Stämme mussten als Cefoxitin-resistent angesehen werden. Die wirksamste Substanz aber war wiederum Cefotaxim, das alle Stämme in Konzentrationen von höchstens 8 mg/l hemmte, 90 %

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			7	3	1	-	-	2	-	2	5	2	1	8
Azlocillin					1	-	-	1	2	4	2	2	1	18
Ticarcillin					-	-	1	5	2	-	-	-	1	22
Cefuroxim					1	-	-	1	-	10	11	6	1	1
Cefoxitin					-	-	2	-	10	15	3	-	1	-
Cefotaxim	9	6	8	5	1	-	1	-	1	-	-			

Tab. 13

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Serratia sp.-Stämme (n = 31). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

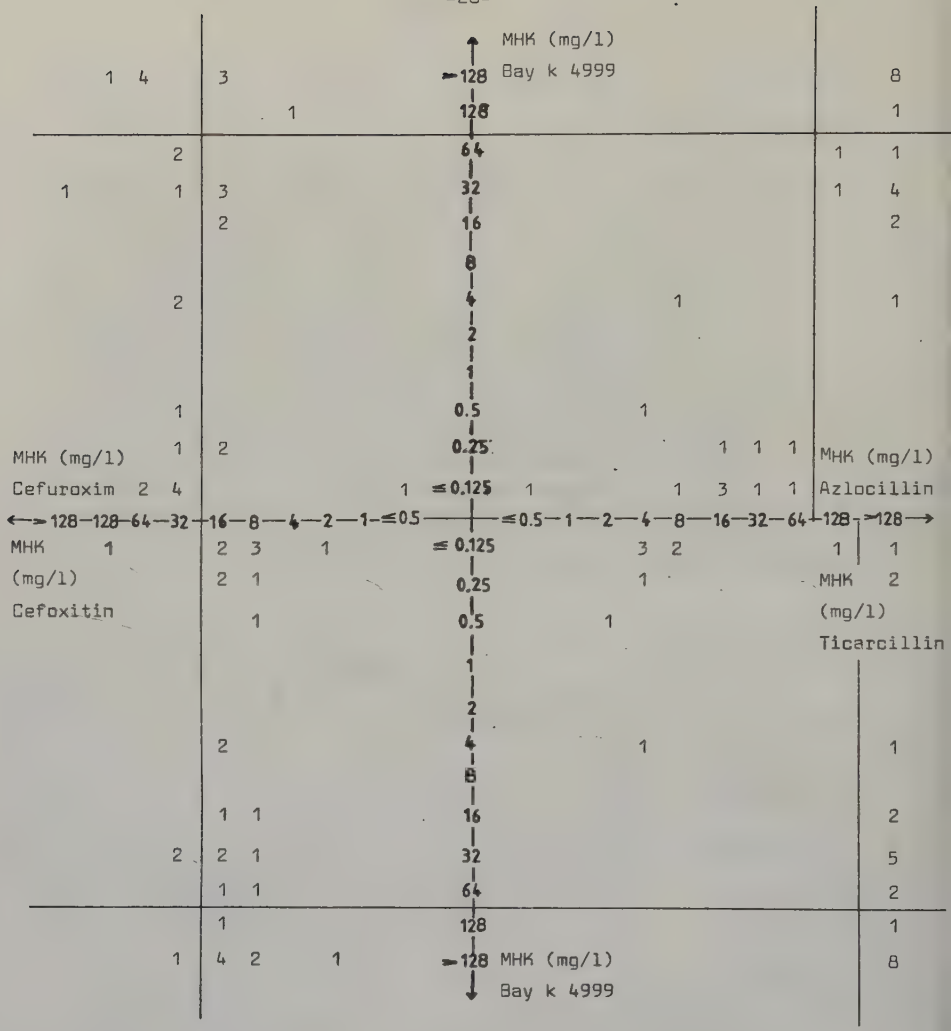

Abb. 7

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999, Azlocillin, Ticarcillin, Cefuroxim und Cefoxitin gegenüber 31 Serratia sp.-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

der Stämme waren schon bei einer Cefotaxim-Konzentration von 0.25 mg/l gehemmt.

Wie aus der Abbildung 7 hervorgeht, stellt Bay k gegenüber einem großen Teil der anderweitig resistenten Stämme eine gut wirksame Alternative dar. So zeigte es eine ausreichende antibakterielle Aktivität gegenüber 10 von 19 Azlocillin-resistenten und gegenüber 13 von 22 Ticarcillin-resistenten Stämmen, während umgekehrt bei allen Bay k-resistenten Stämmen Parallelresistenz gegenüber den beiden anderen Penicillinen vorlag. Von den 19 Cefuroxim-resistenten Stämmen wurden 14 und von den 4 Cefoxitin-resistenten Stämmen 3 durch Bay k im klinisch relevanten Konzentrationsbereich gehemmt. Demgegenüber erwiesen sich Cefuroxim und Cefoxitin gegen 4 bzw. 8 der 9 Bay k-resistenten Stämme als ausreichend wirksam.

Bei einem Stamm wurde komplette Kreuzresistenz zwischen den drei Penicillinen, Cefuroxim und Cefoxitin beobachtet. Dieser Stamm wurde durch Cefotaxim in einer Konzentration von 0.03 mg/l gehemmt.

3.1.6.
Enterobacter spezies

Es wurden insgesamt 23 Stämme der Gattung Enterobacter untersucht, von denen 7 "multiresistente" in einem eigenen Kollektiv zusammengefasst wurden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 14 und 15 dargestellt.
Aus Tabelle 14 ist zu entnehmen, daß von den 16 Stämmen des ersten Kollektivs 15 bei einer Bay k-Konzentration von 4 mg/l gehemmt waren. Damit erwies sich Bay k wiederum als das antibakteriell aktivste Penicillin, gefolgt von Azlocillin, durch das erst bei der 8-fachen Konzentration eine entsprechende Anzahl von Stämmen gehemmt wurde. Während gegenüber Bay k keine Resistenz beobachtet wurde , musste ein Stamm als Azlocillin-resistent angesehen werden. Ticarcillin hemmte zwar etwa die Hälfte der Stämme bei einer Konzentration von 8 mg/l, aber insgesamt war seine Hemmwirkung über einen größeren Konzentrationsbereich verteilt, als dies bei Azlocillin der Fall war, und außerdem mussten 3 Stämme als Ticarcillin-resistent beurteilt werden.
Cefuroxim und Cefoxitin zeigten eine geringere relative Wirksamkeit als die Penicilline, wobei Cefuroxim dem Cefoxitin überlegen war. Cefuroxim hemmte 12 der 16 Stämme in therapeutisch relevanten Konzentrationen, während Cefoxitin nur gegenüber 6 Stämmen ausreichend wirksam war. Die begrenzte Wirksamkeit von Cefoxitin gegenüber Enterobacter sp. entspricht den Beobachtungen anderer Untersucher, wie auch die hier festgestellte Überlegenheit des Cefuroxim (32-36).
Cefotaxim hemmte 15 der 16 Stämme in Konzentrationen von weniger als 1 mg/l. Ein Stamm aber wurde auch durch eine Cefotaxim-Konzentration von 32 mg/l nicht gehemmt, so daß er als resistent gelten muß. Da der genaue Hemmwert nicht bekannt ist, wurde der Stamm in der Tab. 14 bei der MHK 64 mg/l in Klammern gesetzt. Der Stamm war darüberhinaus resistent gegenüber den beiden anderen Cephalosporinen und gegenüber Ticarcillin, während er von Bay k und Azlocillin in klinisch relevanten Konzentrationen gehemmt wurde.
Die Ergebnisse des zweiten Kollektivs, der 7 "multiresistenten"

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			2	1	1	4	6	1	-	-	-	1	-	-
Azlocillin					-	-	-	1	1	7	6	-	1	-
Ticarcillin					-	-	2	5	2	-	1	1	2	3
Cefuroxim					-	-	-	2	6	4	2	1	-	1
Cefoxitin					-	-	-	3	2	1	3	-	2	5
Cefotaxim	5	3	3	3	1	-	-	-	-	-	-	(1)		

Tab. 14

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Enterobacter sp.-Stämme (n = 16). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			-	1	1	-	-	-	-	2	1	-	1	1
Azlocillin					-	-	-	1	-	1	-	-	-	5
Ticarcillin					-	-	-	1	-	-	1	-	-	5
Cefuroxim					-	1	-	-	2	1	1	-	-	2
Cefoxitin					-	-	1	-	2	1	-	-	-	3
Cefotaxim	4	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	(1)		

Tab. 15

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten "multiresistenten" Enterobacter sp.-Stämmen (n = 7).

Enterobacter-Stämme, sind in Tabelle 15 zusammengefasst.
Bay k zeigte sich gegenüber 5 der Stämme ausreichend wirksam, gefolgt von Cefuroxim und Cefoxitin, in deren Wirkungsbereich noch je 4 der Stämme lagen, während durch Azlocillin und Ticarcillin nur je 2 Stämme ausreichend gehemmt wurden.
Die Hemmwerte von Cefotaxim lagen für 5 der 7 Stämme unter 0.25 mg/l. Aber auch in diesem Kollektiv wurde ein Cefotaxim-resistenter Stamm beobachtet, der durch eine Cefotaxim-Konzentration von 32 mg/l nicht gehemmt wurde. Da die genaue Hemmkonzentration nicht bekannt ist, wurde der Stamm in Tab. 15 wie oben bei der MHK 64 mg/l in Klammern gesetzt. Dieser Enterobacter-Stamm war gegenüber allen untersuchten Antibiotika resistent, der MHK-Wert von Bay k lag bei 128 mg/l, die MHK-Werte der anderen Substanzen lagen über 128 mg/l.

3.1.7.
Citrobacter spezies

Von insgesamt 7 untersuchten Stämmen der Gattung Citrobacter waren 2 "multiresistent", wobei wegen der geringen Anzahl auf eine getrennte Darstellung verzichtet wurde.
Wie aus Tabelle 16 hervorgeht, lagen bei gleicher Resistenzhäufigkeit die Hemmkonzentrationen von Bay k niedriger als von Azlocillin. Demgegenüber zeigte Ticarcillin zwar gegenüber etwa der Hälfte der Stämme eine gute Wirksamkeit, erwies sich aber gegenüber einer ebenso großen Anzahl als nicht ausreichend wirksam. Während Cefuroxim insgesamt etwas wirksamer schien als Bay k, wurde Cefoxitin in seiner relativen Wirksamkeit deutlich von Bay k übertroffen.
Cefotaxim hemmte alle Stämme in Konzentrationen von weniger als 0.25 mg/l.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			1	-	-	2	1	1	-	-	-	-	1	1
Azlocillin					-	-	-	-	-	2	3	-	-	2
Ticarcillin					-	-	2	1	-	-	-	-	1	3
Cefuroxim					-	-	1	2	2	1	1	-	-	-
Cefoxitin					-	-	-	1	1	1	1	2	1	
Cefotaxim	3	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 16

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Citrobacter sp.-Stämme (n = 7). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

3.1.8.
Salmonella spezies

Die MHK-Werte für 26 aus Stuhl- oder Urinproben isolierten Stämmen der Gattung Salmonella sind aus Tabelle 17 zu entnehmen.
Die antibakterielle Aktivität der Penicilline fällt in der Reihenfolge Bay k, Ticarcillin, Azlocillin, wobei die Hemmkonzentrationen innerhalb eines engen Konzentrationsbereiches lagen. Verglichen mit Bay k lag die maximale Wirksamkeit von Ticarcillin bei der 4-fachen, von Azlocillin sogar erst bei der 16-fachen Konzentration.
Weder gegenüber den Penicillinen noch gegenüber den Cephalosporinen, von denen Cefoxitin etwas wirksamer war als Cefuroxim, wurden resistente Stämme beobachtet. Durch Cefotaxim waren alle Stämme bei einer Konzentration von 0.125 mg/l gehemmt.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			-	-	-	24	2	-	-	-	-	-	-	-
Azlocillin					-	-	-	-	3	23	-	-	-	-
Ticarcillin					-	-	6	19	1	-	-	-	-	-
Cefuroxim					-	-	-	-	20	6	-	-	-	-
Cefoxitin					-	-	9	13	4	-	-	-	-	-
Cefotaxim	9	15	2	-	-	-	-	-	-	-	-			

Tab. 17

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Salmonella sp.-Stämme (n = 26). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

3.1.9.
Pseudomonas aeruginosa

In den Tabellen 18 und 19 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von insgesamt 62 Pseudomonas aeruginosa-Stämmen in zwei Kollektiven dargestellt.
Das erste Kollektiv umfasste 41 Carbenicillin-empfindliche Stämme (Tab. 18). Bay k und Azlocillin verfügten annähernd über die gleiche antibakterielle Aktivität, während Ticarcillin eine vergleichbare Wirksamkeit erst in 4- bis 8-facher Konzentration zeigte. Allerdings wurden auch durch Ticarcillin, ebenso wie durch die beiden anderen Penicilline, alle Stämme in therapeutisch relevanten Konzentrationen gehemmt, d.h., es traten keine resistenten Stämme auf.
Angesichts der erwartungsgemäß fehlenden Wirksamkeit von Cefuroxim und Cefoxitin (32,33,35,36), war die antibakterielle Aktivität von Cefotaxim hier von besonderem Interesse. An seiner angenommenen Bewertungsgrenze von 16 mg/l waren durch Cefotaxim 23 der 41 Stämme, also mehr als die Hälfte, gehemmt. Ein weiteres Drittel, nämlich 14 Stämme, zeigte sich immerhin noch gegen eine Cefotaxim-Konzentration von 32 mg/l sensibel, während nur 4 Stämme durch diese Konzentration nicht gehemmt wurden. Diese 4 Stämme wurden in der Tabelle bei der MHK 64 mg/l in Klammern gesetzt, da ihr genauer Hemmwert nicht bekannt war.
Die Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen in Abbildung 8 lässt erkennen, daß die Hemmwerte von Bay k und Azlocillin gegenüber 23 der 41 Stämme identisch waren. 11 Stämme wurden durch geringere Bay k-Konzentrationen gehemmt, dagegen nur 6 Stämme durch geringere Azlocillin-Konzentrationen.
Auch gegenüber den 22 Carbenicillin-resistenten Stämmen des zweiten Kollektivs von Pseudomonas aeruginosa erwiesen sich Bay k und Azlocillin als etwa gleichwertig (Tab. 19). Durch beide Substanzen waren alle Stämme bei einer Konzentration von 32 mg/l gehemmt. Demgegenüber zeigte Ticarcillin nur noch eine mäßige Wirksamkeit. Etwa die Hälfte der Stämme wurde erst im Grenzbereich bei einer Ticarcillin-Konzentration von 128 mg/l gehemmt, und gegenüber 5 Stämmen mußte seine Wirksamkeit als unzureichend angesehen werden.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			-	-	1	1	3	7	22	4	3	-	-	-
Azlocillin					-	-	1	11	15	11	1	2	-	-
Ticarcillin					-	-	-	-	2	9	19	8	3	-
Cefuroxim					-	-	-	-	-	-	-	-	-	41
Cefoxitin					-	-	-	-	-	-	-	-	-	41
Cefotaxim	-	-	-	-	-	-	-	1	6	16	14	(4)		

Tab. 18

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Carbenicillin-empfindlichen Pseudomonas aeruginosa-Stämme (n = 41). Die durchgezogene Linie kennzeichnet die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

	MHK (mg/l)													
	≤0.03	0.06	≤0.125	0.25	≤0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
Bay k 4999			-	-	-	-	-	2	2	9	9	-	-	-
Azlocillin					-	-	-	2	-	10	10	-	-	-
Ticarcillin					-	-	-	-	-	-	2	3	12	5
Cefuroxim					-	-	-	-	-	-	-	-	-	22
Cefoxitin					-	-	-	-	-	-	-	-	-	22
Cefotaxim	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	4	(14)		

Tab. 19

Anzahl der bei der jeweiligen Konzentration (mg/l) gehemmten Carbenicillin-resistenten Pseudomonas aeruginosa-Stämme (n = 22).

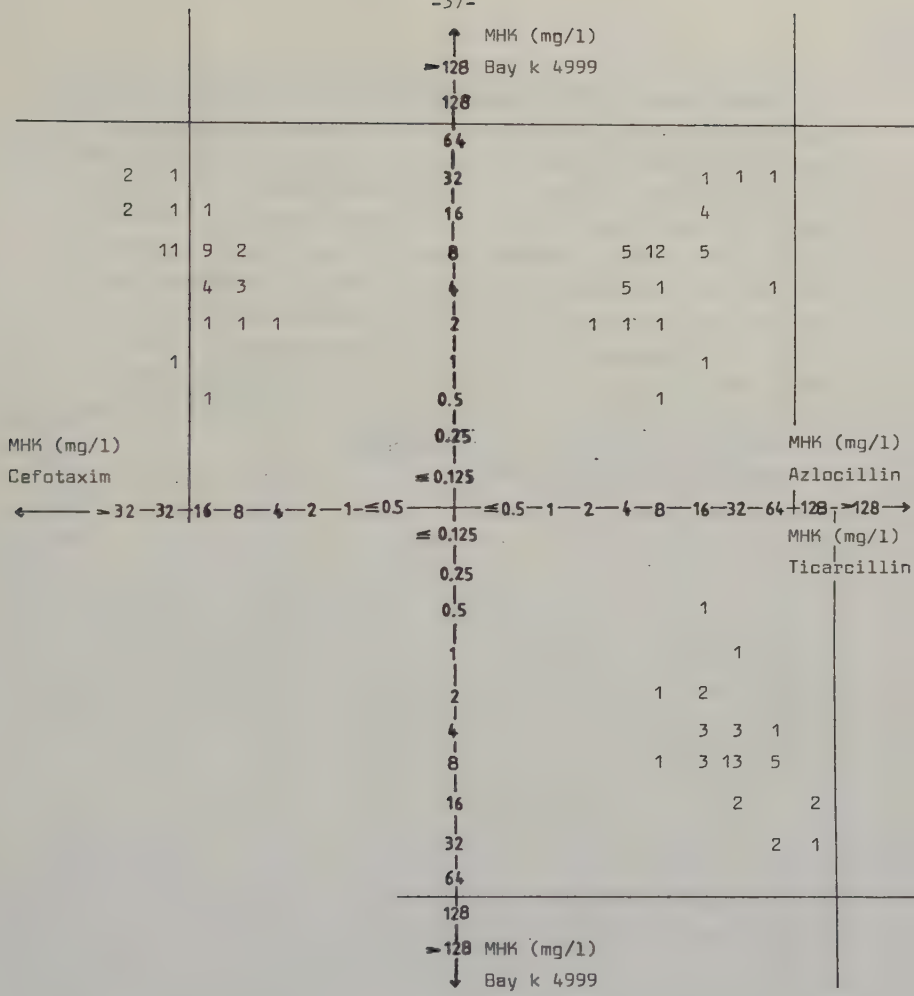

Abb. 8

Gegenüberstellung der minimalen Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999, Azlocillin, Ticarcillin und Cefotaxim gegenüber 41 Carbenicillin-empfindlichen Pseudomonas aeruginosa-Stämmen. Angegeben ist die Anzahl der bei den jeweiligen Konzentrationen gehemmten Stämme. Die durchgezogenen Linien kennzeichnen die Bewertungsgrenzen der Antibiotika.

Die Hemmkonzentrationen der Penicilline gegenüber den Carbenicillin-resistenten Stämmen lagen durchschnittlich 2-3 mal so hoch wie gegenüber den Carbenicillin-empfindlichen Stämmen. Die Carbenicillin-resistenten Stämme besaßen also gewissermaßen ein erhöhtes Resistenzniveau. Daher erscheint es nicht verwunderlich, daß die Wirksamkeit von Cefotaxim gegenüber diesem zweiten Kollektiv deutlich geringer ist, als gegenüber dem ersten. Immerhin aber wurden noch fast 20 % der Carbenicillin-resistenten Pseudomonas aeruginosa-Stämme durch therapeutisch relevante Cefotaxim-Konzentrationen gehemmt, und weitere fast 20 % durch eine Cefotaxim-Konzentration von 32 mg/l. Die überwiegende Anzahl der Stämme jedoch zeigte sich auch gegen diese Konzentration resistent.

3.2.

Einfluß der ß-Laktamase-Produktion auf die Antibiotika-Sensibilität der Bakterienarten

Die ß-Laktamase-Produktion der Bakterienstämme wurde wie unter

Bakterienart	ß-Laktamase-Produktion	Anz. d. Stämme	Resistenzhäufigkeit BAY	ACL	TIC	CXM	FOX	CTX
E. coli	+	557	34 (6%)	62(11%)	75(13%)	16 (3%)	10 (2%)	0
	-	38	2 (5%)	4(11%)	4(11%)	2 (5%)	1 (3%)	0
Klebsiella sp.	+	100	27	46	87	9	8	0
	-	11	1	3	7	0	1	0
Proteus sp. indol-neg.	+	10	7	8	6	0	0	0
	-	82	2	4	4	1	0	0
Proteus sp. indol-pos.	+	16	2	3	2	6	0	0
	-	10	1	2	4	2	0	0
Providencia sp.	+	6	4	5	5	0	0	0
	-	2	0	1	0	0	0	0
Serratia sp.	+	23	6	14	15	13	2	0
	-	8	3	6	7	6	2	0
Enterobacter sp.	+	19	2	4	6	6	11	1
	-	4	1	2	2	1	2	1
Citrobacter sp.	+	6	2	2	3	1	4	0
	-	1	0	0	0	1	0	0
Pseudomonas aerug.	+	28	0	0	0	28	28	17
	-	35	0	0	0	35	35	19

Tab. 20

Anzahl der gegenüber dem jeweiligen Antibiotikum resistenten Bakterienstämmen mit nachweisbarer bzw. fehlender ß-Laktamase-Produktion. BAY=Bay k 4999, ACL=Azlocillin, TIC=Ticarcillin, CXM=Cefuroxim, FOX=Cefoxitin, CTX=Cefotaxim.

2.6. beschrieben geprüft und die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung für Bakterienstämme mit nachweisbarer bzw. fehlender oder geringer ß-Laktamase-Produktion getrennt ausgewertet. Die Resistenzhäufigkeit gegenüber den untersuchten Antibiotika ist für beide Kollektive in Tab. 20 dargestellt, die geometrischen Mittelwerte der

Bakterienart	ß-Laktamase-Produktion	Anz.d.Stämme	Mittlere MHK (mg/l) (geometrisches Mittel) BAY	ACL	TIC	CXM	FOX	CTX
E. coli	+	557	0.3	8	5	4	4	0.03
	-	38	0.3	6	4	4	4	0.03
Klebsiella sp.	+	100	6	67	218	5	4	0.02
	-	11	2	28	155	5	5	0.02
Proteus sp. Indol-neg.	+	10	64	104	52	3	4	0.02
	-	82	0.4	3	0.6	2	3	0.02
Proteus sp. Indol-pos.	+	16	1	11	3	16	4	0.02
	-	10	1	7	4	4	3	0.02
Providencia sp.	+	6	102	203	102	7	5	0.04
	-	2	2	64	1	6	4	0.09
Serratia sp.	+	23	45	68	72	22	12	0.09
	-	8	128	138	152	23	15	0.1
Enterobacter sp.	+	19	2	28	24	14	41	0.1
	-	4	13	76	108	27	23	0.2
Citrobacter sp.	+	6	4	58	25	6	29	0.04
	-	1	4	32	128	32	16	0.1
Pseudomonas aerug.	+	28	12	13	67	>128	>128	29
	-	35	8	11	42	>128	>128	25

Tab.21

Mittlere MHK-Werte (mg/l) der einzelnen Antibiotika gegenüber den Bakterienstämmen mit nachweisbarer bzw. fehlender ß-Laktamase-Produktion. BAY=Bay k 4999, ACL=Azlocillin, TIC=Ticarcillin, CXM=Cefuroxim, FOX=Cefoxitin, CTX=Cefotaxim.

der MHK-Werte sind aus Tab. 21 zu entnehmen.
Zwischen denbeiden E. coli-Kollektiven wurden weder hinsichtlich der Häufigkeit resistenter Stämme noch hinsichtlich der MHK-Werte bei einem der Antibiotika signifikante Unterschiede beobachtet. Demgegenüber war bei den ß-laktamase-positiven Klebsiella sp.-Stämmen der Anteil Bay k-resistenter Stämme dreimal so groß wie bei den ß-laktamase-negativen, und entsprechend lag die mittlere minimale Hemmkonzentration von Bay k gegenüber dem ersten Kollektiv etwa dreimal so hoch wie bei dem zweiten. Für Azlocillin lagen die Resistenzhäufigkeit und der mittlere MHK-Wert bei den ß-laktamase-positiven Stämmen etwa um den Faktor 2.4 höher als bei den ß-laktamase-negativen, und für Ticarcillin betrug der Faktor nur noch 1.4. Die in der Reihenfolge Bay k, Azlocillin, Ticarcillin festzustellende Abnahme des ß-Laktamase-Einflusses mag durch die in der gleichen Reihenfolge abnehmende Wirksamkeit der Antibiotika zu erklären sein.
Noch deutlicher zeigte sich die Abhängigkeit der Antibiotika-Wirkung von der ß-Laktamase-Produktion bei den indol-negativen Proteus-Stämmen und bei Providencia sp. Bei den ß-laktamase-positiven Proteus mirabilis-Stämmen lagen Resistenzhäufigkeit und mittlerer MHK-Wert für Bay k 23mal bzw. 160mal so hoch wie bei den ß-laktamase-negativen. Die entsprechenden Faktoren waren für Azlocillin 15 bzw. 35, für Ticarcillin 12 bzw. 87. Die mittleren Hemmkonzentrationen der Penicilline gegenüber ß-Laktamase produzierenden Providencia-Stämmen lagen ebenfalls bedeutend höher als gegenüber den ß-laktamase-negativen Stämmen, wobei allerdings die geringe Anzahl der Stämme eine besonders große statistische Ungenauigkeit bedingt. Bei Serratia, Enterobacter und Citrobacter lagen die mittleren Hemmkonzentrationen der ß-laktamase-negativen Kollektive zum Teil höher als die der ß-laktamase-positiven. Als Ursache kommt auch hier die geringe Anzahl der Stämme in Betracht, da insbesondere die wenigen ß-laktamase-negativen Stämme nicht repräsentativ sein dürften und die Unterschiede im allgemeinen nur eine Konzentrationsstufe ausmachen. Andererseits lässt diese bei den übrigen Bakterienarten nicht beobachtete Tendenz darauf schliessen, daß hier andere Resistenzmechanismen vorliegen als die Bildung von ß-Laktamasen.

Gegenüber Pseudomonas aeruginosa wurde keine signifikante Korrelation zwischen der Penicillin-Wirkung und der ß-Laktamase-Produktion festgestellt.
Die antibakterielle Aktivität der drei Cephalosporine erwies sich entsprechend ihrer ß-Laktamase-Stabilität erwartungsgemäß als weitgehend unabhängig von der ß-Laktamase-Produktion der Bakterien. Eine Ausnahme macht möglicherweise Cefoxitin bei Einwirkung auf Enterobacter sp., da seine mittlere Hemmkonzentration hier gegenüber den ß-laktamase-positiven Stämmen etwa doppelt so hoch lag wie gegenüber den ß-laktamase-negativen.
Die angegebenen mittleren MHK-Werte enthalten eine methodische Ungenauigkeit: Bei ihrer Berechnung wurde für Hemmkonzentrationen unterhalb der kleinsten untersuchten Konzentration eines Antibiotikums der nächste, nicht mehr erfasste Wert, eingesetzt. Das bedeutet, daß bei Bay k 4999 für alle MHK-Werte unter 0.125 der Wert 0.06 eingesetzt wurde, bei Cefotaxim für alle MHK-Werte unter 0.03 der Wert 0.015 und bei den übrigen Substanzen für alle MHK-Werte unter 0.5 der Wert 0.25. Entsprechend wurde für alle Hemmkonzentrationen, die größer waren als die größte untersuchte Konzentration eines Antibiotikums, der nächst höhere Wert angenommen. Dadurch dürften jedoch die Relationen zwischen den mittleren MHK-Werten der ß-laktamase-positiven und -negativen Stämmen größenordnungsmäßig nicht verändert worden sein.

3.3.
pH-Abhängigkeit der antibakteriellen Aktivität von Bay k 4999

Die Änderung der minimalen Hemmkonzentrationen von Bay k gegenüber E. coli ATCC 25 922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9721 und einem zufällig ausgewähltem Klebsiella sp.-Stamm in Abhängigkeit vom pH-Wert des Testmediums wurde im Agardilutions-Test untersucht.
Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 dargestellt. Daraus geht hervor, daß die Wirksamkeit von Bay k nicht nur von dem pH-Wert abhängt, sondern die pH-Abhängigkeit auch von Bakterienart zu Bakterienart, möglicherweise sogar von Stamm zu Stamm, variiert, da die Bakterien selbst auf die pH-Änderungen unterschiedlich reagieren. Gegenüber dem E. coli ATCC-Stamm lag der MHK-Wert im pH-Bereich von 6.0 bis 7.5 konstant bei 1. Bei den nächst niedrigen pH-Werten stieg die Hemmkonzentration zunächst an, um bei pH 4.5 auf eine Bay k-Konzentration von weniger als 0.25 (mg/l) abzufallen, da dieses Milieu offenbar für das Wachstum des Keims zu sauer war. Gegenüber dem Pseudomonas aeruginosa ATCC-Stamm blieb die minimale

MHK (mg/l)

pH-Wert	8.0	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5	5.0	4.5
E. coli ATCC 25 922	2	1	1	1	1	2	4	≤0.25
Pseudomonas aerug. ATCC 9721	8	4	2	2	2	8	≤0.25	≤0.25
Klebsiella sp.	8	4	4	4	4	8	8	8

Tab. 22

Minimale Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999 bei verschiedenen pH-Werten.

Hemmkonzentration von 2 mg/l nur in dem pH-Bereich von 6.0 bis 7.0 konstant. Nach einem steilen Anstieg des Hemmwertes bei pH 5.5 wurde das Wachstum des Keimes schon bei pH 5.0 durch das Milieu unterdrückt.

Die Hemmkonzentration gegenüber dem Klebsielle sp.-Stamm lag in dem pH-Bereich von 6.0 bis 7.5 konstant bei 4 mg/l. Anders aber als bei den beiden übrigen Stämmen wurde das Wachstum dieses Stammes nicht durch ein saures Milieu bis pH 4.5 gehemmt. Aber auch die Wirksamkeit von Bay k nimmt, nach der Verdoppelung des Hemmwertes bei pH 5.5, mit stärkerer Säuerung bis pH 4.5 nicht weiter ab. Alle vergleichenden Untersuchungen der minimalen Hemmkonzentrationen im Agardilutionstest (3.1.1.-3.1.9.) wurden mit Mueller-Hinton-Agar bei pH 7.3 durchgeführt. Die in diesen Versuchen gemessenen MHK-Werte der als Wirksamkeitskontrollen mitgeführten Labor-Stämme E. coli ATCC 25 922 und Pseudomonas aerug. ATCC 9721 sind in Tabelle 23 dargestellt und stimmen für Bay k mit den in der pH-Abhängigkeitsstudie gefundenen MHK-Werten bei pH 7.0 überein.

MHK (mg/l)

	BAY	ACL	TIC	CXM	FOX	CTX
E. coli ATCC 25 922	1	8	4	8	4	0.06
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9721	2	1	4	> 128	> 128	4

Tab. 23

Minimale Hemmkonzentrationen (mg/l) der verschiedenen Antibiotika gegenüber den bei den Untersuchungen 3.1.1. bis 3.1.9. als Wirksamkeitskontrolle mitgeführten Laborstämmen. BAY=Bay k 4999, ACL= Azlocillin, TIC=Ticarcillin. CXM=Cefuroxim, FOX=Cefoxitin, CTX= Cefotaxim.

3.4.
Verhalten von Bay k 4999 in Lösungen

3.4.1.
Stabilität in Infusionslösungen

Mit Hilfe des Lochplatten-Verfahrens (siehe 2.4.) wurde die Frage untersucht, ob die Aufbewahrung von Bay k in 5 %iger Glucose-Infusionslösung bzw. in physiologischer Kochsalzlösung innerhalb von 24 Stdn. zu einem Wirksamkeitsverlust führt. Als Standard wurde jeweils eine entsprechende Vergleichslösung von Bay k in aqua pro injectione, die im Kühlschrank aufbewahrt wurde, mitgeführt. Als Leerwert zum Ausschluß einer eventuellen antibakteriellen Eigenaktivität der Infusionslösungen, diente jeweils eine Probe ohne Antibiotikum-Zusatz. Als Ausgangswerte wurden die ersten Proben unmittelbar nach Zusatz des Antibiotikums bezeichnet.
Die aus zwei Messungen ermittelten Hemmhofdurchmesser der zu den verschiedenen Zeiten entnommenen Proben sind in Tabelle 24 dargestellt. Daraus geht hervor, daß eine Bay k-Lösung von 10 g/l in

	Hemmhofdurchmesser (mm)		
	5% Gluc.	0.9% NaCl	Vergleichslösung
Leerwert	0	0	0
Ausgangswert (nach Bay k-Zusatz)	42	42	42
nach 1/2 Std.	42	42	42
nach 1 1/2 Stdn.	42	42	42
nach 3 Stdn.	42	42	42
nach 6 Stdn.	41.5	42	41.5
nach 10 Stdn.	41.5	42	42
nach 24 Stdn.	41.5	41.5	41.5

Tab. 24

Hemmhofdurchmesser (mm) von Proben (50 µl) verschiedener Bay k-Lösungen (10 g/l) im Verlauf von 24 Stunden.

den untersuchten Medien über 24 Stunden bei Zimmertemperatur praktisch keinen nennenswerten Aktivitätsverlust erleidet. Die nach 6 bis 24 Stunden teilweise aufgetretenen Schwankungen der Durchmesser entsprechen einem Wirkungsverlust von etwa 2 % und dürften damit innerhalb der Fehlergrenzen liegen.

3.4.2.

Antibakterielle Aktivität in Plasmawasser und Urin

Die Wirksamkeit von Bay k in Plasmawasser und Urin im Vergleich zu einer Lösung in aqua pro injectione wurde ebenfalls im Agardiffusions-Test nach dem Lochplattenverfahren (2.4) untersucht. Die gemittelten Hemmhofdurchmesser von Proben der verschiedenen Lösungen mit einer Bay k-Konzentration von 128 mg/l sind aus Tabelle 25 zu entnehmen. Die jeweiligen Leerwerte enthielten kein Antibiotikum und dienten zum Ausschluß eventueller Eigenaktivitäten der Lösungsmittel.
Die gemessenen Änderungen der Hemmhofdurchmesser entsprechen maximal einem Aktivitätsverlust von etwa 3 % und dürften damit innerhalb der Fehlergrenzen liegen. Es kann also festgestellt werden, daß in den untersuchten Körperflüssigkeiten weder ein bemerkenswerter Aktivitätsgewinn noch ein bemerkenswerter Aktivitätsverlust von Bay k gegenüber Bacillus subtilis ATCC 6633 beobachtet wurde.

	Hemmhofdurchmesser (mm)	
Material	Leerwert	Probe
Vergleichslösg.	0	30
Plasmawasser	0	29.5
Urin I	0	30
Urin II	0	29.75
Urin III	0	30
Urin IV	0	29.75
Urin V	0	30

Tab. 25

Hemmhofdurchmesser (mm) von Proben (50 µl) einiger Bay k-Lösungen (128 mg/l) in Plasmawasser und Urin, sowie einer Vergleichslösung.

3.5.
Kombination von Bay k 4999 mit Gentamicin

Im Reihenverdünnungstest als Mikromethode (s. 2.5.) wurden verschiedene Konzentrationen von Bay k und Gentamicin kombiniert, und die Änderung der antibakteriellen Aktivität gegenüber 62 Bakterienstämmen im Vergleich zur Aktivität der Einzelsubstanzen untersucht.
Als Maß für die Wirksamkeitsänderung eines Antibiotikums in der Kombination mit einem anderen, wurde die relative Aktivität FIC (fractional inhibitory concentration) (37) herangezogen. FIC ist der Quotient aus der MHK der Substanz in der Kombination und der MHK der Einzelsubstanz. Durch den FIC-Index, die Summe der FIC-Werte beider Kombinationspartner, kann das Verhalten beider Antibiotika gleichzeitig erfasst und der insgesamt erreichbare Effekt beurteilt werden. Verhalten sich die beiden Substanzen in der Kombination völlig indifferent, so beträgt der FIC-Index 2, ist der FIC-Index größer als 2, so verhalten sich die Kombinationspartner antagonistisch zueinander, befindet er sich zwischen 2 und 0.61, so liegt eine Addition der Effekte vor. Eine Potenzierung, also eine überproportionale Verstärkung der antibakteriellen Aktivitäten, wird als Synergismus bezeichnet. FIC-Indices von weniger als 0.3 kennzeichnen einen ausgeprägten, von 0.31 bis 0.6 einen mäßigen Synergismus.
Es ist bekannt, daß Kombinationen von Penicillinen mit Aminoglykosiden häufig synergistisch wirken und daher in vielen Fällen von ansonsten therapieresistenten baktereillen Erkrankungen, insbesondere durch Pseudomonas aeruginosa, erfolgreich eingesetzt werden können (38-41).
Die vorliegenden Untersuchungen der Kombination von Bay k mit Gentamicin wurde überwiegend mit solchen Bakterienstämmen durchgeführt, die sich gegenüber einem der beiden oder beiden Antibiotika resistent verhielten.
Aus der Tabelle 26 ist zu entnehmen, daß sich Bay k und Gentamicin gegenüber 20 von 22 Klebsiella sp.-Stämmen in allen aufgetretenen Konzentrations-Kombinationen indifferent verhielten; nur in zwei Fällen wurde ein additiver Effekt beobachtet. Desgleichen blieben die Hemmkonzentrationen gegenüber zwei E. coli-Stämmen ohne nachweisbare Veränderung. Demgegenüber wurde bei zwei Enterobacter sp.-

Bakterienart	Nr.	MHK (mg/l) Bay k	Genta.	Bay k + Genta.	FIC-Index
Klebsiella spezies	1	>128	1	>128/1	2
	2	>128	1	>128/1	2
	3	>128	2	>128/2	2
	4	>128	1	>128/1	2
	5	>128	1	>128/1	2
	6	>128	2	>128/2	2
	7	>128	1	>128/1	2
	8	>128	4	>128/2	1
	9	>128	2	>128/2	2
	10	>128	1	>128/2	2
	11	>128	4	>128/4	2
	12	>128	2	>128/2	2
	13	64	8	32/2	0.75
	14	>128	1	>128/1	2
	15	>128	2	>128/2	2
	16	>128	2	>128/2	2
	17	>128	2	>128/2	2
	18	>128	1	>128/1	2
	19	>128	0.25	>128/0.25	2
	20	8	0.125	8/0.125	2
	21	4	0.125	4/0.125	2
	22	8	0.25	8/0.25	2
E. coli	1	>128	2	>128/2	2
	2	>128	1	>128/1	2
Enterobacter spezies	1	>128	8	64/0.5	≤0.31
	2	>128	4	16/2	≤0.56
Citrobacter spezies	1	>128	2	64/1	≤0.75
	2	>128	1	>128/1	2
Proteus mirab.	1	>128	>8	>128/>8	–
	2	>128	>8	>128/>8	–

Tab. 26 Legende siehe Seite 51

Bakterienart	Nr.	MHK (mg/l) Bay k	Genta.	Bay k + Genta.	FIC-Index
Proteus mirab.	3	64	1	4/0.25	0.31
	4	>128	>8	>128/>8	-
	5	16	0.5	4/0.125	0.5
Proteus vulgaris		>128	0.5	16/0.125	≤0.31
Proteus rettgeri		64	8	32/2	0.75
Proteus morganii		>128	>8	32/4	≤0.63
Providencia spezies	1	>128	>8	16/8	≤0.56
	2	>128	>8	16/4	≤0.31
	3	>128	>8	>128/>8	-
	4	>128	>8	64/4	≤0.5
	5	>128	>8	16/4	≤0.31
Serratia spezies	1	>128	4	64/1	≤0.5
	2	128	4	64/1	0.75
	3	128	4	32/1	0.5
	4	>128	4	64/1	≤0.5
	5	>128	>8	4/4	≤0.27
	6	>128	4	32/2	≤0.63
	7	>128	>8	>128/>8	-
	8	128	>8	8/4	≤0.31
	9	>128	4	32/0.5	≤0.25
	10	32	4	16/0.25	0.56
	11	>128	4	64/1	≤0.5
	12	>128	>8	64/1	≤0.31
	13	128	2	64/0.5	0.75
	14	4	0.5	1/0.125	0.5
	15	2	0.25	1/0.125	0.75
Pseudomonas aeruginosa	1	32	>8	8/2	≤0.38
	2	32	>8	8/4	≤0.5
	3	32	>8	8/4	≤0.5
	4	16	8	4/2	0.5

Fortsetzung von Tab. 26, Legende siehe Seite 51

Bakterienart	Nr.	MHK (mg/l) Bay k	Genta.	Bay k + Genta.	FIC-Index
Pseudomonas aeruginosa	5	32	2	16/0.5	0.75
	6	64	0.25	32/0.06	0.74

Fortsetzung von Tab. 26

Legende zu Tab. 26

Minimale Hemmkonzentrationen (mg/l) von Bay k 4999 und Gentamicin alleine und in der Kombination. FIC=fractional inhibitory concentration ist der Quotient aus der MHK eines Antibiotikums in der Kombination und der MHK dieses Antibiotikums als Einzelsubstanz. Der FIC-Index ist die Summe der FICs beider Kombinationspartner.

Stämmen eine mäßige bis ausgeprägte synergistische Wirkung beobachtet. Gegenüber zwei Citrobacter sp.-Stämmen wurde wiederum kein Synergismus festgestellt. Bei 5 indol-negativen Proteus-Stämmen trat in drei Fällen keine und zweimal eine mäßige synergistische Wirkung auf. Bei zwei von drei indol-positiven Proteus-Stämmen war die Wirkung als stark bzw. als mäßig synergistisch einzustufen, während der Kombinations-Effekt gegenüber dem dritten Stamm nur als additiv anzusehen war. Gegenüber 5 Providencia sp.-Stämmen wurde viermal mäßiger Synergismus beobachtet und einmal Indifferenz. Die Wirkung der Kombination war gegenüber 10 von 15 Serratia sp.-Stämmen mäßig bis stark synergistisch, gegenüber 4 Stämmen additiv bzw. fraglich synergistisch und gegenüber einem Stamm indifferent. Gegenüber 6 Pseudomonas aeruginosa-Stämmen wurde in 4 Fällen ein mäßiger Synergismus beobachtet, und gegenüber zwei Stämmen war die Wirkungssteigerung additiv.
Diese Ergebnisse zeigen, daß die Fähigkeit der Kombination Bay k/ Gentamicin zu synergistischen Wirkungssteigerungen keine vorhersagbare Eigenschaft der Kombination gegenüber bestimmten Bakteri-

arten ist. Die Art der Antibiotika-Interaktion variiert von Stamm zu Stamm, wenn auch gegenüber Klesiella sp. die Indifferenz zu überwiegen schien. Offenbar spielt es auch keine Rolle, ob sich ein Bakterienstamm gegenüber den einzelnen Kombinationspartnern sensibel oder resistent verhält.
Diese Befunde entsprechen den Ergebnissen anderer Untersuchungen über verschiedene Penicillin/Aminoglykosid-Kombinationen (40-42). Die wiederholt beschriebene und kontrovers diskutierte Beobachtung, daß sich Carbenicillin und Gentamicin unter gewissen Bedingungen inaktivieren, schließt offenbar einen Synergismus zwischen beiden Substanzen nicht aus (43-48).
In Übereinstimmung mit Synergismus-Studien an Azlocillin und Mezlocillin kombiniert mit Aminoglykosiden (40), wurde in der vorliegenden Untersuchung in keinem Fall eine antagonistische Wirkung beobachtet, die auf eine Inaktivierung von Gentamicin durch Bay k schließen lassen könnte.

4.
Zusammenfassende Beurteilung

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß Bay k 4999 eine ausgezeichnete antibakterielle Aktivität gegenüber Enterobacteriaceae und Pseudomonas aeruginosa besitzt.
Seine Überlegenheit über Azlocillin und Ticarcillin gegenüber 595 untersuchten E. coli-Stämmen bewies Bay k einerseits durch niedrigere Hemmkonzentrationen gegenüber den sensiblen Stämmen und andererseits durch seine Wirksamkeit gegenüber der Mehrzahl der Azlocillin- bzw. Ticarcillin-resistenten Stämme.
Von 111 Stämmen der Gattung Klebsiella, denen gegenüber Azlocillin nur begrenzt und Ticarcillin unzureichend wirksam war, wurden insgesamt 83 (75%) durch klinisch relevante Bay k-Konzentrationen gehemmt, während das restliche Viertel kreuzresistent war gegenüber allen drei Penicillinen.
Gegenüber 92 indol-negativen und 26 indol-positiven Proteus-Stämmen lagen zwar die MHK-Werte von Bay k im therapeutischen Bereich deutlich niedriger als die von Azlocillin und Ticarcillin, an den Bewertungsgrenzen waren die Unterschiede aber weitgehend ausgeglichen.
Demgegenüber lagen bei drei von acht Stämmen der Gattung Providencia die Hemmkonzentrationen von Ticarcillin sogar niedriger als die von Bay k, an den Bewertungsgrenzen waren aber auch hier beide Substanzen etwa gleich wirksam.
Gegenüber Serratia sp. (31 Stämme), Enterobacter sp. (23 Stämme) und Citrobacter sp. (7 Stämme) erwies sich Bay k den beiden anderen Penicillinen deutlich überlegen, wobei die Aktivität von Ticarcillin der von Azlocillin entsprach.
Unter 26 Stämmen der Gattung Salmonella wurde keine Resistenz gegenüber einem der Penicilline beobachtet. Die Wirksamkeit der Verbindungen fiel in der Reihenfolge Bay k, Ticarcillin, Azlocillin.
Gegenüber Pseudomonas aeruginosa erwiesen sich Bay k und Azlocillin annähernd gleich wirksam. Bei 40 (64%) von 63 untersuchten Stämmen waren die Hemmkonzentrationen von Bay k und Azlocillin identisch, bei 16 Stämmen (25%) lagen die Hemmkonzentrationen von Bay k niedriger und bei 7 Stämmen (11%) höher als die von Azlo-

cillin.
Diese Befunde kennzeichnen Bay k als ein Derivat, das anderen modernen Penicillinen in seiner antibakteriellen Aktivität überlegen ist und insbesondere gegenüber der Mehrzahl Azlocillin- bzw. Ticarcillin-resistenter Enterobacteriaceae eine brauchbare Alternative darstellt. Eine vergleichbare Wirksamkeit von Bay k wurde auch von Wise et al. (49) beobachtet.
Der Vergleich von Bay k mit Cefuroxim und Cefoxitin zeigt, daß gegenüber einigen Bakterienarten, nämlich E. coli, Klebsiella sp., Proteus mirabilis und Providencia sp., die relative Wirksamkeit der beiden Cephalosporine die von Bay k übertraf. Andererseits erwies sich Bay k gegenüber indol-positiven Proteus-Arten, Serratia sp., Enterobacter sp., Citrobacter sp. und Salmonella sp. einem oder beiden Cephalosporinen überlegen bzw. gleichwertig.
Entsprechend der Empfindlichkeit von Bay k gegen Hydrolyse durch ß-Laktamasen (49) konnte bei Klebsiella sp., Proteus mirabilis, Providencia sp. und Citrobacter sp. eine deutliche Abhängigkeit der antibakteriellen Aktivität von der ß-Laktamase-Produktion festgestellt werden, allerdings nicht bei den übrigen Bakterienarten.
Der pH-Bereich, in dem die antibakterielle Aktivität von Bay k konstant bleibt, hängt offenbar von der Bakterienart, möglicherweise sogar von jedem einzelnen Stamm ab. Allerdings scheint die Konstanz der Wirksamkeit in dem pH-Bereich von 6.0 bis 7.0 eine allgemeine Gültigkeit zu besitzen.
Bei der Untersuchung der Stabilität von Bay k in Infusionslösungen konnte innerhalb von 24 Stdn. praktisch kein Aktivitätsverlust festgestellt werden. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu anderen Untersuchungen, in denen solche Wirkungsverluste für Penicilline nachgewiesen wurden (50). Interessanterweise nimmt aber die Stabilität der Verbindungen in der Reihenfolge Penicillin G, Ampicillin, Carbenicillin zu, was sich in einer Abschwächung des Wirkungsverlustes ausdrückt, der bei Carbenicillin noch etwa 30 % in 24 Stdn. betrug.
Bei dem Vergleich der Wirksamkeit von Bay k in Körperflüssigkeiten wurde weder in Plasmawasser noch in Urin eine Änderung der Aktivität beobachtet. Diese Ergebnisse können wegen der unterschiedlichen Testsysteme nicht ohne weiteres mit anderen Befunden ver-

glichen werden, da nicht nur die verschiedenen Antibiotika, sondern auch die Bakterienarten unterschiedlich, z.T. gegensinnig von der Zusammensetzung des Mediums beeinflußt werden (51,52). Bemerkenswert erscheint die Feststellung, daß die untersuchten ß-Laktamantibiotika in weit geringerem Maße von dem Medium beeinflußt wurden als andere Antibiotika (51).
Bei der Kombination von Bay k mit Gentamicin zeigte sich, daß das Auftreten additiver oder synergistischer Wirkungsverstärkungen nicht durch die Bakterienart, sondern durch die einzelnen Stämme bestimmt wird. Eine antagonistische Wechselwirkung der Antibiotika wurde nicht beobachtet.
Die zweite in der vorliegenden Arbeit untersuchte Verbindung, das neue Cephalosporin-Antibiotikum Cefotaxim (HR 756), bewies eine ganz außergewöhlich hohe antibakterielle Wirksamkeit. Von insgesamt 919 getesteten Enterobakteriaceae waren 905 (89%) bei einer Cefotaxim-Konzentration von 0.06 mg/l gehemmt. Selbst gegenüber Pseudomonas aeruginosa zeigte Cefotaxim eine bemerkenswerte Aktivität. Von 63 Stämmen, die alle gegen Cefoxitin und Cefuroxim resistent waren, wurden 27 (43%) durch therapeutisch relevante Cefotaxim-Konzentrationen gehemmt, und auch die Mehrzahl der übrigen Stämme wurde durch eine Konzentration gehemmt, die nur knapp über der Bewertungsgrenze lag.
Diese hervorragende Aktivität von Cefotaxim ist auch in anderen Untersuchungen beschrieben, wobei allerdings mit Pseudomonas aeruginosa unterschiedliche Ergebnisse erzielt wurden (23,53-55).

5.
Literatur

1. Knothe, H.: Keimwandel unter Chemotherapie. Münch. med. Wschr. 118 (1976), 521-524
2. Ullmann, U.: Erregerspektrum und Resistenzsituation bei Bakteriurie hospitalisierter Patienten. Immun. Infekt. 5 (1977), 252-257
3. Wysocki, S.: Infektionsproblematik bei chirurgischen Intensivpatienten. Infection 6 (1978) Suppl. 2, 173-175
4. Knothe, H., Sietzen, W.: Mikrobiologische Überlegungen beim Einsatz von Antibiotika auf Intensivabteilungen. Infection, 6 (1978) Suppl. 2, 191-193
5. Ullmann, U.: Profil der Mehrfachresistenz bei Enterobacteriaceae hospitalisierter Patienten. Infection, 6 (1978) Suppl. 2, 219-222
6. Sykes, R.B., Matthew, M.: The ß-laktamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to ß-lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother., 2 (1976), 115-157
7. O'Callaghan, C.H., Morris, A.: Inhibition of ß-Lactamases by ß-Lactam Antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother., 2 (1972), 442-448
8. Greenwood, D., O'Grady, F.: Potent combinations of ß-lactam antibiotics using the ß-lactamase inhibition principle. Chemotherapy, 21 (1975), 330-341
9. Brown, A.G., Butterworth, D., Cole, M., Hanscomb, G., Hood, J.D., Reading, C.: Naturally-occuring ß-lactamase inhibitors with antibacterial activity. J. Antibiot., 29 (1976), 668-669
10. Reading, C., Cole, M.: Clavulanic Acid: a Beta-Lactamase-Inhibiting Beta-Lactam from Steptomyces clavuligerus. Antimicrob. Agents Chemother., 11 (1977), 852-857
11. Jackson, R.T., Harris, L.F., Alford, R.H.: Sodium Clavulanat Potentiation of Cephalosporin Activity Against Clinical Isolates of Cephalothin-Resistant Klebsiella pneumoniae. Antimicrob. Agents Chemother., 14 (1978), 118-125
12. Paisley, J.W., Washington, J.A.: Combined Activity of Clavulanic Acid and Ticarcillin Against Ticarcillin-Resistant,

Gram-Negative Bacilli. Antimicrob. Agents Chemother., 14 (1978), 224-227

13. English, A.R., Retsema, J.A., Girard, A.E., Lynch, J.E., Barth, W.E.: CP-45,899, a Beta-Lactamase Inhibitor That Extends the Antibacterial Spectrum of Beta-Lactams: Initial Bacteriological Characterisation. Antimicrob. Agents Chemother., 14 (1978), 414-419
14. Wick, W.E., Preston, D.A.: Biological Properties of Three 3-Heterocyclic-Thiomethyl Cephalosporin Antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother., 1 (1972), 221-234
15. Silverblatt, F., Harrison, W.O., Turck, M.: Nephrotoxicity of Cephalosporin Antibiotics in Experimental Animals. J. Infect. Dis., 128 (1973) Suppl., 367-372
16. Mandell, G.L.: Cephaloridine. Ann. Intern. Med., 79 (1973), 561-565
17. Benner, J.: Renal damage associated with prolonged administration of ampicillin, cephaloridine and cephalotin. Antimicrob. Agents Chemother. 1969, 412-420
18. Schulte-Lippern, M., Freyland, M.D., Frotscher, U., Jenett, G., et al.: Akutes Nierenversagen nach hochdosierter Cephalotinbehandlung. Med. Klin., 68 (1973), 202-206
19. Birkhead, H.A., Briggs, G.B., Saunders, L.Z.: Toxicology of Cefazolin in Animals. J. Infect. Dis., 128 (1973) Suppl., 379-381
20. Foord, R.D.: Cephaloridine, cephalothin and the kidney. J. Antimicrob. Chemother., 1 (1975) Suppl., 119-133
21. O'Callaghan, C.H.: Classification of cephalosporins by their antibacterial activity and pharmacokinetic properties. J. Antimicrob. Chemother., 1 (1975) Suppl., 1-12
22. Lode, H., Baruch, B., Koeppe, P., Lehmann-Brauns, S.: Neue Entwicklungen bei den Cephalosporin-Antibiotika. Infection, 6 (1978) Suppl. 2, 197-202
23. Fu, K.P., Neu, H.C.: Beta-Lactamase Stability of HR 756, a Novel Cephalosporin, Compared to That of Cefuroxime and Cefoxitin. Antimicrob. Agents Chemother., 14 (1978), 322-326
24. Sack, K., Lepére, A., Schwieder, G.: Nierenverträglichkeit von Cephalosporinantibiotika: Cefoxitin und HR 756. Med. Welt,

29 (1978), 1233-1236

25. Klein, P.: Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen Laboratoriumspraxis. Springer-Verlag 1957
26. O'Callaghan, C.H., Morris, A., Kirby, S.M., Shingler, A.H.: Novel Method for Detection of β-Lactamases by Using a Chromogenic Cephalosporin Substrat. Antimicrob. Agents Chemother., 1 (1972), 283-288
27. Krasemann, C., Prog. Abstr. Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother., 16th, Chicago, Ill., Abstr. 346 (1976)
28. Stewart, D., Bodey, G.P.: Azlocillin: In Vitro Studies of a New Semisynthetic Penicillin. Antimicrob. Agents Chemother., 11 (1977), 865-870
29. Fu, K.P., Neu, H.C.: Azlocillin and Mezlocillin: New Ureido Penicillins. Antimicrob. Agents Chemother., 13 (1978), 930-938
30. Eickhoff, T.C., Ehret, J.M.: Comparative Activity In Vitro of Ticarcillin, BL-P 1654, and Carbenicillin. Antimicrob. Agents Chemother., 10 (1976), 241-244
31. Ullmann, U., in: Ticarcillin (BRL 2288), international symposium Switzerland 1977 (International Congress Series No. 445, published by Excerpta Medica Amsterdam)
32. Neu, H.C.: Cefoxitin, a Semisynthetic Cephamycin Antibiotic: Antibacterial Spectrum and Resistance to Hydrolysis by Gram-Negative Beta-Lactamases. Antimicrob. Agents Chemother., 6 (1974), 170-176
33. Verbist, L.: Comparison of the Antibacterial Activity of Nine Cephalosporins Against Enterobacteriaceae and Nonfermentative Gram-Negative Bacilli. Antimicrob. Agents Chemother., 10 (1976), 657-663
34. Ullmann, U.: Vergleichende Untersuchungen zur antibakteriellen Aktivität von Cefoxitin. Infection 7 (1977) Suppl. 1, 52-56
35. Birnbaum, J., Stapley, O.E., Miller, A.K., Wallick, H., Hendlin, D., Woodruff, H.B.: Cefoxitin, a semi-synthetic cephamycin: a microbiological overview. J. Antimicrob. Chemother., 4 (1978) Suppl. B, 15-32
36. O'Callaghan, C.H., Sykes, R.B., Ryan, D.M., Foord, R.D., Muggleton, P.W.: Cefuroxime - a new cephalosporin antibiotic.

J. Antibiot., 29 (1976), 29-37

37. Japan Cooperative Bacteriological Study Group for Co-trimoxazole: Analysis of In Vitro Antibacterial Activities of the Combination of Trimethoprim and Sulamethoxazole on Clinical Isolates in Japan. J. Infect. Dis., 128 (1973) Suppl., 502-507
38. Smith, C.B., Dans, P.E., Wilfert, J.N., Finland, M.: Use of Gentamicin in Combination with Other Antibiotics. J. Infect. Dis., 119 (1969), 370-377
39. Ullmann, U.: In-vitro Untersuchungen über die Wirkung der Kombination von Gentamicin und Beta-Lactamantibiotika auf Pseudomonas aeruginosa. Immun. Infekt., 3 (1975), 79-85
40. Neu, H.C., Fu, K.P.: Synergy of Azlocillin and Mezlocillin Combined With Aminoglycoside Antibiotics and Cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother., 13 (1978), 813-819
41. Yoshikawa, T.T., Shibata, S.A.: In Vitro Antibacterial Activity of Amikacin and Ticarcillin Alone and in Combination, Against Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother., 13 (1978), 997-999
42. Heinemann, H.S., Lofton, W.M.: Unpredictibel Response of Pseudomonas aeruginosa to Synergistic Antibiotic Combinations In Vitro. Antimicrob. Agents Chemother., 13 (1978), 827-831
43. McLaughlin, J.E., Reeves, D.S.: Clinical and laboratory evidence for inactivation of Gentamicin by Carbenicillin. Lancet, 1971, 261-264
44. Noone, P., Pattison, J.R.: Therapeutic implications of interaction of Gentamicin and Penicillins. Lancet, 1971, 575-578
45. Riff, L., Jackson, G.G.: Gentamicin plus Cerbenicillin. Lancet, 1971, 592
46. Eykyn, S., Phillips, I., Ridley, M.: Gentamicin plus Carbenicillin. Lancet, 1971, 545-546
47. Levison, M.E., Kaye, D.: Carbenicillin plus Gentamicin. Lancet, 1971, 45-46
48. Riff, L.J., Jackson, G.G.: Laboratory and Clinical Conditions for Gentamicin Inactivation by Carbenicillin. Arch. Intern. Med., 130 (1972), 887-891

49. Wise, R., Andrews, J.M., Bedford, K.A.: Comparison of the In Vitro Activity of Bay k 4999 and Piperacillin, Two New Anti-pseudomonal Broad-Spectrum Penicillins, with Other ß-Lactam Drugs. Antimcrob. Agents Chemother., 14 (1978), 549-552
50. Lode, H., Küpper, G.: Aktivitätsverluste von Antibiotika in Infusionslösungen. Infection, 1(1973), 151-156
51. Helm, E.B., Stille, W.: Resistenzbestimmingen von Antibiotika in Körperflüssigkeiten. Immun. Inf., 6 (1978), 217-222
52. Dutcher, B.S., Reynard, A.M., Beck, M.E., Cunningham, R.K.: Potentiation of Antibiotic Bactericidal Activity by normal Human Serum. Antimicrob. Agents Chemother., 13 (1978), 820-826
53. Heymès, R., Lutz, A., Schrinner, E.: Experimental Evaluation of HR 756, a New Cephalosporin Derivat: Pre-Clinical Study. Infection, 5 (1977), 259-260
54. Drasar, F.A., Farrell, W., Howard, A.J., Hince, C., Leung, T., Williams, J.D.: Activity of HR 756 against Haemophilus influencae, Bacteroides fragilis and Gram-negative rods. J. Antimicrob. Chemother., 4 (1978), 448-450
55. Hamilton-Miller, J.M.T., Brumfit, W., Reynolds, A.V.: Cefotaxime (HR 756) a new cephalosporin with exceptional broad-spectrum activity in vitro. J.Antimicrob. Chemother., 4 (1978), 437-444

Lebenslauf

Am 18. August 1946 wurde ich, Ingo Bert Besenthal, als Sohn des Jochen-Dieter Besenthal und seiner Ehefrau Anni, geborene Christoph, in Regensburg geboren. Die Grundschule besuchte ich von 1953-57 in Wuppertal-Vohwinkel und anschliessend das dortige Städt. Nat.-wiss. Gymnasium Vohwinkel, an dem ich am 2. Nov. 1966 die Reifeprüfung ablegte.
Nach Ableistung des Grundwehrdienstes nahm ich im Sommersemester 1968 an der Universität Tübingen das Studium der Biochemie und Physiologischen Chemie auf, das ich am 5. März 1974 mit der Diplomprüfung beendete. Am 30. August 1977 promovierte ich zum Doktor der Naturwissenschaften an der Universität Tübingen mit der Dissertation: "Untersuchungen zur Kompartimentierung von DNA-Polymerase aus Ehrlich-Aszites-Tumorzellen".
Im Sommersemester 1971 nahm ich, ebenfalls in Tübingen, zusätzlich das Studium der Humanmedizin auf, welches ich am 22. Dez. 1976 mit der ärztlichen Prüfung abschloß. Seit meiner Approbation als Arzt am 31. Jan. 1978 arbeite ich als wissenschaftlicher Angestellter am Hygiene-Institut der Universität Tübingen.
Die Arbeiten zu der vorliegenden Dissertation: "Vergleichende Untersuchungen zur antibakteriellen Aktivität von Bay k 4999 (Furazlocillin) und Cefotaxim" wurden von April 1978 bis September 1979 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. U. Ullmann am Hygiene-Institut durchgeführt.